

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie  
(Direktor: Prof. Dr. med. J. Aldenhoff)  
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel  
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

---

Verhaltensbiologische Effekte einer subchronischen perinatalen  
Antagonisierung des NMDA Rezeptors bei Ratten auf Tiere der zweiten  
Generation

Inauguraldissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von  
Karl von Randow  
aus Kiel

Kiel 2009

Erster Berichterstatter: Prof. Dr. Aldenhoff

Zweiter Berichterstatter: Prof. Dr. Herdegen

Tag der mündlichen Prüfung 29. September 2009

Zum Druck genehmigt Kiel, den 29. September 2009

gez. Prof. Dr. Dr. Cascorbi  
(Ausschussvorsitzender)

*„Alles Gescheite ist schon gedacht worden, man muss nur versuchen, es noch einmal zu denken.“*

Johann Wolfgang von Goethe

*„Überall geht ein früheres Ahnen dem späteren Wissen voraus.“*

Alexander von Humboldt

Meinen Eltern  
und Cécile

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	3
2	Material und Methoden.....	8
2.1	Versuchstiere .....	8
2.2	Die Behandlung mit MK-801 .....	8
2.3	Versuchsabläufe.....	9
2.4	Open Field Maze.....	9
2.5	Elevated Plus Maze.....	11
2.6	Forced Swim Test .....	13
2.7	Statistik.....	13
2.8	Tötung der Tiere.....	13
3	Ergebnisse .....	14
3.1	Physiologie der Tiere.....	14
3.2	Open Field.....	15
3.2.1	<i>Zurückgelegte Distanz</i> .....	15
3.2.2	<i>Mittlere Geschwindigkeit</i> .....	15
3.2.3	<i>Verharren</i> .....	16
3.2.4	<i>Aufenthalt in den Ecken</i> .....	16
3.2.5	<i>Aufenthalt in den Randbereichen</i> .....	17
3.2.6	<i>Aufenthalt im Zentrum</i> .....	18
3.2.7	<i>Putzen</i> .....	20
3.2.8	<i>Aufrichten</i> .....	20
3.2.9	<i>Zusammenfassung</i> .....	21
3.3	Elevated Plus Maze.....	22
3.3.1	<i>Zurückgelegte Distanz</i> .....	22
3.3.2	<i>Mittlere Geschwindigkeit</i> .....	22
3.3.3	<i>Verharren</i> .....	23
3.3.4	<i>Aufenthalt in den geschlossenen Armen</i> .....	24
3.3.5	<i>Aufenthalt in den distalen geschlossenen Armen</i> .....	25
3.3.6	<i>Aufenthalt im Zentrum</i> .....	27
3.3.7	<i>Aufenthalt in den offenen Armen</i> .....	28
3.3.8	<i>Aufenthalt in den distalen offenen Armen</i> .....	28
3.3.9	<i>Aufrichten</i> .....	30
3.3.10	<i>„Kopf strecken“</i> .....	31
3.3.11	<i>Zusammenfassung</i> .....	32
3.4	Forced Swim Test .....	34
3.4.1	<i>Schwimmen</i> .....	34
3.4.2	<i>Zusammenfassung</i> .....	35
4	Diskussion .....	36
4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	36
4.2	Der NMDA-Rezeptor .....	37
4.3	Interpretation der Ergebnisse .....	40
4.4	Vergleich bisheriger Ergebnisse mit denen aus Akutversuchen.....	41
4.5	Einfluss von Stress versus Habituation .....	43
4.6	Altersentwicklung in Bezug auf Stress .....	45

4.7	Zusammenhänge der Ergebnisse mit Nachkommen affektiv erkrankter Menschen .....	46
4.8	Maternal Behaviour / Mütterliches Pflegeverhalten .....	47
4.9	Epigenetik – Vom Phänotyp zum Genotyp.....	48
4.10	Fazit und Ausblick .....	48
5	Zusammenfassung .....	50
6	Literaturverzeichnis .....	51
	Danksagung .....	57
	Lebenslauf .....	58

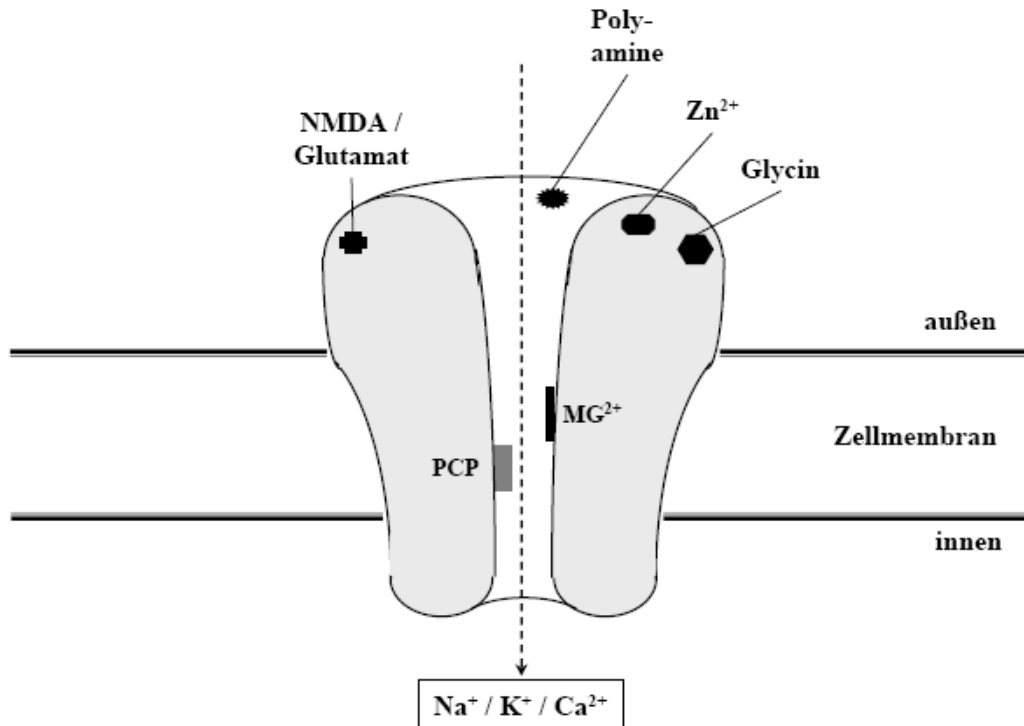
# 1 Einleitung

Seit den 1970er Jahren herrschte als physiologischer Erklärungsansatz für die Entstehung der Schizophrenie die „Dopamin-Hypothese“ vor. Sie geht von einer Überproduktion des Hormons Dopamin im Zentralen Nervensystem (ZNS) bei schizophrenen Patienten aus. So induzieren Drogen wie Kokain, welche zu einem Dopamin-Überschuss führen, der Schizophrenie sehr ähnliche Symptome. Andersherum führen Antipsychotika mit einer antagonistischen Wirkung auf das dopaminerge Rezeptorsystem zu einer Linderung eines Teils der Symptome. Diese Linderung bezieht sich allerdings nur auf die positiven Symptome der Schizophrenie (Halluzinationen oder Verwirrung), während die negativen Symptome (Anhedonie oder soziale Isolation) und eine kognitive Einschränkung (Aufmerksamkeitsdefizit oder gestörtes Arbeitsgedächtnis) weitestgehend unbeeinflusst bleiben. Heute weiß man, dass auch Serotonin- und N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren (NMDAR) eine wichtige Rolle in diesem Krankheitsgeschehen spielen (Di Pietro and Seamans 2007). Zunehmendes Interesse in der Forschung und Klinik erweckten in den vergangenen Jahren kognitive Störungen, wozu Defizite in Bezug auf die Aufmerksamkeit und die Gedächtnisbildung gehören (Elliott and Sahakian 1995; Toso, Poggi et al. 2005).

Eine zentrale Rolle bei den kognitiven Störungen spielt der ionotropische NMDA-Rezeptor (Nayyar, Wu et al. 2003; Javitt 2007). Er gehört zur Gruppe der Glutamat-Rezeptoren (Kakegawa, Tsuzuki et al. 2003; Gardoni and Di Luca 2006) und gilt als hauptverantwortlich für die exzitatorische Übertragung und die synaptische Plastizität im ZNS (Malenka and Nicoll 1993; Panatier, Theodosis et al. 2006). Dementsprechend weit ist er im gesamten ZNS verbreitet (Gardoni and Di Luca 2006). Der NMDAR wird als heteromerer Komplex aus zwei Untereinheiten gebildet: der ubiquitär vorhandenen NMDAR1 (NR1)-Untereinheit und vier NMDAR2 (NR2A-D)-Untereinheiten (Sakimura, Kutsuwada et al. 1995). Die Zusammensetzung der NMDAR2 Untereinheiten A bis D variiert je nach Region und Funktion des Rezeptorsystems. (Watanabe, Inoue et al. 1992; Imanaka, Morinobu et al. 2006). Bei Mäusen mit einem Defizit an NR-2A wurde eine Verschlechterung (Sakimura, Kutsuwada et al. 1995; Rampon and Tsien 2000) und bei Mäusen mit einer Überexpression an NR-2B dagegen eine Verbesserung der Gedächtnisleistung festgestellt (Tang, Shimizu et al. 1999). Bei Ratten wurde gleichfalls ein direkter Zusammenhang zwischen der Dichte der NMDA-Rezeptoren und der Gedächtnisleistung beschrieben (Stecher, Muller et al. 1997). Hier ist der Anteil der NMDA-Rezeptoruntereinheiten NR-2A und NR-2B am stärksten in den pyramidalen Zellschichten der CA1 und CA3 Region des Hippocampus vertreten (Monyer, Burnashev et al. 1994). Der Hippocampus wiederum gilt als zentrale Schaltstelle für die

Gedächtnisleistung. Bei Menschen mit Alzheimer wurden post mortem signifikante Reduktionen von NR-2A und NR-2B im Hippocampus festgestellt (Hynd, Scott et al. 2004), die in ihrer Ausprägung mit den kognitiven Defiziten der Patienten korrelierten (Olney, Wozniak et al. 2002).

Zur Aktivierung des NMDA-Rezeptors muss präsynaptisch L-Glutamat freigesetzt werden. Dieses führt, nach Ausschüttung in den synaptischen Spalt, postsynaptisch zu einer Aktivierung des AMPA-Rezeptors, der eine Depolarisation der postsynaptischen Membran verursacht. Gleichzeitig bindet das L-Glutamat an den NMDA-Rezeptor und bewirkt bei ihm eine Konformitätsänderung. Erst im Anschluss an diese Depolarisation und Konformitätsänderung kann ein Co-Agonist wie Glycin oder D-Serin an die Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors binden (Panatier, Theodosis et al. 2006) und es kommt zu einer Aufhebung der Blockade durch  $Mg^{2+}$  und somit zum  $Ca^{2+}$ -Einstrom (Wyneken, Marengo et al. 2004). Diese Vorraussetzung mehrerer, gleichzeitiger Ereignisse ist ungewöhnlich und führt zu der Annahme, dass die betroffenen Synapsen ausgesprochen häufig gebraucht werden. Eine solche Erhöhung der Leitfähigkeit des NMDA-Rezeptors wird als langfristige Steigerung der synaptischen Plastizität (Long-Term-Potentiation = LTP) bezeichnet und gilt als Grundlage für Lernen und Gedächtnisbildung (Bliss and Collingridge 1993; Malenka and Nicoll 1993; Wyneken, Marengo et al. 2004).



**NMDA = N-methyl-D-aspartat**  
**PCP = phencyclidine**

Abb. 1: Der NMDA-Rezeptor: Die physiologische Blockade des Rezeptors durch  $Mg^{2+}$  wird durch das Eintreten von drei Ereignissen aufgelöst: 1. Die Anlagerung von Glutamat am benachbarten AMPA-Rezeptor führt zur Depolarisation der Membran 2. Die Anlagerung von Glutamat am NMDA-Rezeptor führt zur Kanalöffnung 3. Die Anlagerung von Glycin / D-Serin am Glycin-Rezeptor als obligative Parallelreaktion. Erst nach Eintritt dieser drei Ereignisse diffundiert  $Mg^{2+}$  aus dem Kanal des Rezeptors und es kommt zum Einstrom von  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$  und  $K^+$ . Phencyclidine ist ein kompetitiver Antagonist des NMDA – Rezeptors und blockiert, ähnlich wie MK-801, den Kanal des Rezeptors. (Mit freundlicher Genehmigung von Dr. Schiffelholz, frei nach Nature Vol.361:31-39 Ciba found symp164:176-196)

Der NMDA-Rezeptor ist die zentrale Schaltstelle für die exzitatorische Glutamat-Freisetzung im gesamten ZNS und hat daher besonderen Einfluss auf die normale Hirnfunktion (Gardoni and Di Luca 2006). Eine Reihe von ZNS-Erkrankungen wird mit einer Fehlfunktion des NMDA-R-Systems in Verbindung gebracht:

- Ischämie
- Epilepsie
- Morbus Huntington
- Morbus Parkinson
- Morbus Alzheimer
- Alkoholismus
- Schizophrene Psychosen



Zur Untersuchung der Funktion des NMDAR's werden in der Forschung Antagonisten eingesetzt. Sie reduzieren oder blockieren die Funktion des NMDA's und induzieren sowohl im Human-, als auch im Tierexperiment der Schizophrenie sehr ähnliche Symptome. Einer der am häufigsten verwendeten Antagonisten ist MK-801 (Dizozilpin), ein nicht-kompetitiver Antagonist des NMDA-Rezeptors (Svenningsson, Tzavara et al. 2003; Coyle and Tsai 2004; Stefani and Moghaddam 2005; Rujescu, Bender et al. 2006). Die Applikation von MK-801 induziert kognitive Defizite (Kesslak, Chuang et al. 2003; Stefani and Moghaddam 2005; Rezvani, Tizabi et al. 2008), Hypermotilität, Ataxie oder Stereotypie (Pitsikas, Zisopoulou et al. 2008), sowie eine Beeinträchtigung der sozialen Interaktion (Matsuoka, Tsunoda et al. 2008). Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf die verhaltensbiologische Beobachtung der Nachkommen MK-801-behandelter Ratten und ihre Reaktion auf Stress, der ihnen durch Schwimmen im Forced Swim Test (FST) zugefügt wurde. Das Verhalten der Folgegeneration behandelter Muttertiere war von zentralem Interesse, weil die Nachkommen von Alkoholikern und Schizophrenen Patienten ebenfalls häufig Verhaltensauffälligkeiten zeigen. So wurden bei den Kindern von schizophrenen Müttern deutliche neuromotorische Abweichungen (McNeil, Harty et al. 1993) und gesteigerte Anzeichen für Angstbedingtes Verhalten (Naslund, Persson-Blennow et al. 1984) festgestellt. Chronischer Alkoholkonsum bei Müttern, der für eine Blockierung der NMDA-Rezeptoren sorgt (Yang, Criswell et al. 1996; Petrakis, Limoncelli et al. 2004), führte zu reduzierter Intelligenz bei den Kindern (fetal alcohol syndrom) (Willford, Leech et al. 2006). Bei Ratten bestätigten zahlreiche Versuche diese Feststellungen. Wurden Muttertieren geringe Mengen an Ethanol während der Schwangerschaft appliziert, kam es beiden Nachkommen zu deutlichen Einschränkungen in der räumlichen und nicht-räumlichen Gedächtnisleistung (Omoto, Seki et al. 1993; Popovic, Caballero-Bleda et al. 2006) und im Explorationsverhalten (Osborn, Kim et al. 1998). Ferner zeigten diese Tiere höhere Kortikosteron-Spiegel im Elevated Plus Maze Experiment (Osborn, Kim et al. 1998). Die erste Generation MK-801 behandelte Ratten wurde in verschiedenen Versuchsreihen mehrfach im Open Field (OF) und im Elevated Plus Maze (EPM) beobachtet. OF und EPM sind klassische Vertreter für die Beurteilung von Angst und Erkundungsinteresse (Whimbey and Denenberg 1967; Asano 1986; Carobrez and Bertoglio 2005). Festgestellte Verhaltensstörungen waren bei den MK-801 behandelten Tieren gesteigerte Aktivität, eine schlechtere Eingewöhnung und eine deutlich reduzierte Erinnerung im Falle einer Wiederholung des OF (Dai and Carey 1994; Carey, Dai et al. 1998). In einer anderen Studie konnte gezeigt werden, dass die perinatale subchronische Behandlung von MK-801 zu einer gesteigerten Aktivität im OF bei jungen Tieren (30d und 60d alt) führte (Schiffelholz, Hinze-Selch et al. 2004). Behandelte Ratten zeigten während der Pubertät bis zu einem Alter von 60 d (Dohler and Wuttke 1975) eine Hyperaktivität in Form einer größeren zurückgelegten Gesamtstrecke und einer höheren Durchschnittsgeschwindigkeit,

die sich nach der Pubertät im Alter von 90d sprunghaft reduzierte und jetzt geringer war als bei den Kontrolltieren (Schiffelholz, Hinze-Selch et al. 2004). Ebenso kam es in jenen Versuchen nach der Pubertät zu einer Abnahme des Aufrichtens und der Aufenthaltsdauer im Zentrum des OF, sowie zu einer Zunahme der Aufenthaltsdauer in den Ecken, was als eine Reduktion des Explorationsverhaltens interpretiert werden kann. Im Elevated Plus Maze (EPM) wurde bei den mit MK-801 behandelten Tieren in allen Altersgruppen eine Reduktion der Aktivität im Vergleich zu den Kontrolltieren beobachtet (Schiffelholz et al. PharmacolBiochemBehav eingereicht und die Arbeit in NeurosciLett). Dementsprechend waren Dauer und Häufigkeit des Verharrens bei den behandelten Tieren gesteigert. Die Analyse der Aufenthalte in den jeweiligen Bereichen des EPM ergab in der ersten Generation MK-801-behandelter Ratten, verglichen mit Kontrolltieren, eine geringere Gesamtzeit in den geschlossenen Armen vor der Pubertät und längere Aufenthalte in diesen Bereichen im Alter ab 90 Tagen. Das Körpergewicht bei mit MK-801 behandelten Tieren war im Alter von 70d um 15% reduziert (Gorter, Titulaer et al. 1991), bei Tieren, die von PD1 bis PD22 MK-801 und zusätzlich den kompetitiven NMDA-Antagonisten (CGP 39551) bekamen, um 25%–32% reduziert. Da sich die bisherigen Veröffentlichungen größtenteils auf die Beobachtung junger Tiere vor Ende der Pubertät erstreckten und die Symptomatik der Schizophrenie meist erst im Erwachsenenalter auftritt (Olney, Newcomer et al. 1999), konzentrierte sich diese Arbeit auf die Untersuchung von adulten Ratten ab einem Alter von 70 Tagen. Als Vergleichsgruppe dienten Nachkommen von Placebo behandelten Ratten gleichen Alters. Für die Untersuchung von altersbedingten Verhaltensänderungen wurden Tiere bis zu einem Alter von 220 d verhaltensbiologisch analysiert. Zur optimalen Erfassung der Verhaltensauffälligkeiten wurden die Tiere jeweils vor und nach dem FST in das Open Field (OF) und das Elevated Plus Maze (EPM) gesetzt und beobachtet. Ein Vergleich der Versuche vor- mit denen nach dem FST sollte Aufschluss über die Reaktionen der Tiere auf Stress geben. Von besonderem Interesse war dabei die Frage, ob die Folgegeneration der MK-801-behandelten Muttertiere ebenfalls Verhaltensstörungen aufweisen würde, wie es in der ersten Generation beobachtet wurde.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Versuchstiere

Für die Versuche wurden 120 männliche Wistar Ratten (Charles River, Sulzfeld) verwendet. Davon stammten 60 Tiere (MK-801 II.Gen.) von MK-801 (Dizocilpin) behandelten Muttertieren (Alter 90 Tage) und 60 Tiere (Kontrollen = Ctrl) von Placebo behandelten Muttertieren (Alter 90 Tage). Im Alter von 21 Tagen wurden die Jungtiere von der Mutter abgesetzt und in Gruppen von 3-5 Tieren umgesetzt. Die Haltung der Tiere erfolgte in einem lichtgeschützten Raum bei  $21\pm1^{\circ}\text{C}$  unter einem konstanten Lichtrhythmus Hell:Dunkel mit 12:12 Stunden bei ca. 50 Lux (Licht an um 8.00–20.00 Uhr). Über den gesamten Versuchsverlauf (Eingewöhnung, Erholung und Experiment) erhielten die Tiere ein spezielles Diätfutter (Altromin 1324) in Pelletform in Kombination mit Wasser *ad libitum*.

Zehn Tage vor Beginn der Versuche wurden die Ratten für eine optimale Eingewöhnung auf Einzelkäfige aus Plexiglas mit visueller und akustischer Kontaktmöglichkeit verteilt. In dieser Zeit wurden das Gewicht und die Aufnahme von Futter und Wasser quantitativ über einen Zeitraum von einer Woche bestimmt.

### 2.2 Die Behandlung mit MK-801

Alle für die Experimente nötigen Eingriffe entsprachen der aktuellen deutschen Gesetzgebung zum Tierschutz.

MK-801 (Dizocilpine) ist ein neuroprotektiver und nicht- kompetitiver Antagonist des N-Methyl-D-aspartat (NMDA) Rezeptors. Der ersten Generation weiblicher Wistar Ratten wurde vom 6. bis zum 21. Lebenstag Dizocilpine (MK-801; 0,25 mg/kg; SIGMA) gelöst in 0,9%iger NaCl- Lösung mit einer intraperitonealen Injektion während der ersten 2 Stunden der Lichtphase verabreicht. Die Muttertiere der Kontrolltiere bekamen stattdessen 0,9%ige NaCl- Lösung als Placebo. Beide Gruppen weiblicher Ratten wurden im Alter von 90 Tagen mit unbehandelten Männchen verpaart.

### 2.3 Versuchsabläufe

Im Alter von 70, 100, 130, 160, 190 und 220 Tagen wurden je Altersstufe 9 Kontrollen und 9 Exemplare der Tochtergeneration der mit MK-801-behandelten Tiere (II.Gen. MK-801) für die Versuche genutzt. Die Versuche liefen jeweils über einen Zeitraum von fünf Tagen innerhalb der ersten zwei Stunden der Lichtphase. Dabei war die Reihenfolge wie folgt:

Tag 1: Open Field Maze (OF 1)

Tag 2: Elevated Plus Maze (EPM 1)

Tag 3: Forced Swim Test (FST)

Tag 4: Elevated Plus Maze (EPM 2)

Tag 5: Open Field Maze (OF 2)

Die Anordnung der Versuche ermöglichte es, den Einfluss von Stress (Forced Swim Test) auf die Parameter Angst, Neugier und Bewegungsdrang durch einen Vergleich der Ergebnisse aus OF 1 und EPM 1 mit denen aus OF 2 und EPM 2 zu untersuchen.

### 2.4 Open Field Maze

Das Open Field Maze ist ein quadratischer Behälter (1 x 1 m) aus dunkelgrauem Kunststoff mit einer Wandhöhe von einheitlich 50 cm. Die Bewegungen der Ratten wurden mithilfe einer Videokamera festgehalten, die mit einem PC und einem Monitor zur direkten Beobachtung verbunden war. Während des Versuchs wurden die Verhaltensweisen Aufrichten („rearing“) und Putzen („grooming“) vom Versuchsleiter manuell über die Tastatur eingegeben. Die Aufzeichnungen und Auswertungen der Bewegungen erfolgten mit dem Computerprogramm Etho Vision Basic (Fa. Noldus, Niederlande). Für eine genauere Analyse des Verhaltens wurde das Areal der Open Field Maze in Ecken, den Randbereich (Randbereich mit einer Breite, die etwa der Körperlänge einer Ratte entspricht) und einen Mittelbereich aufgeteilt (Abb. 2). Folgende Parameter wurden ermittelt: Die zurückgelegte Gesamtstrecke (m), die Durchschnittsgeschwindigkeit (cm/sec), die Häufigkeit und die Dauer (sec) der Aufenthalte der Versuchstiere in den einzelnen Bereichen und die Latenz des ersten Erreichens (sec) der einzelnen Bereiche. Weiterhin wurden die Verhaltensweisen Aufrichten („rearing“) und Putzen („grooming“) offline ausgewertet.

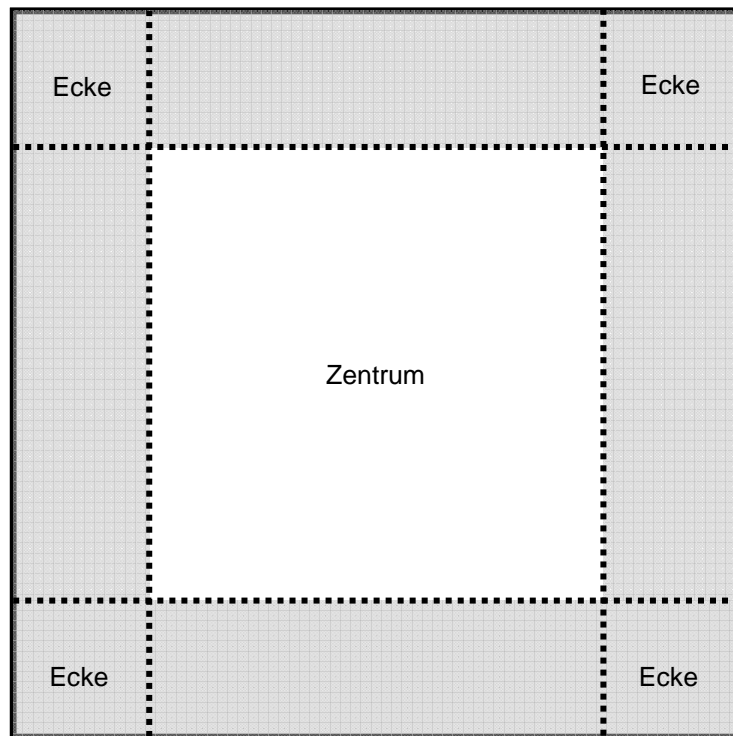


Abb 2: Schema zur Darstellung des Open Field (OF). Einteilung in Zentrum (gefährlich), Randbereiche (neutral) und Ecken (sicher)

Randbereich

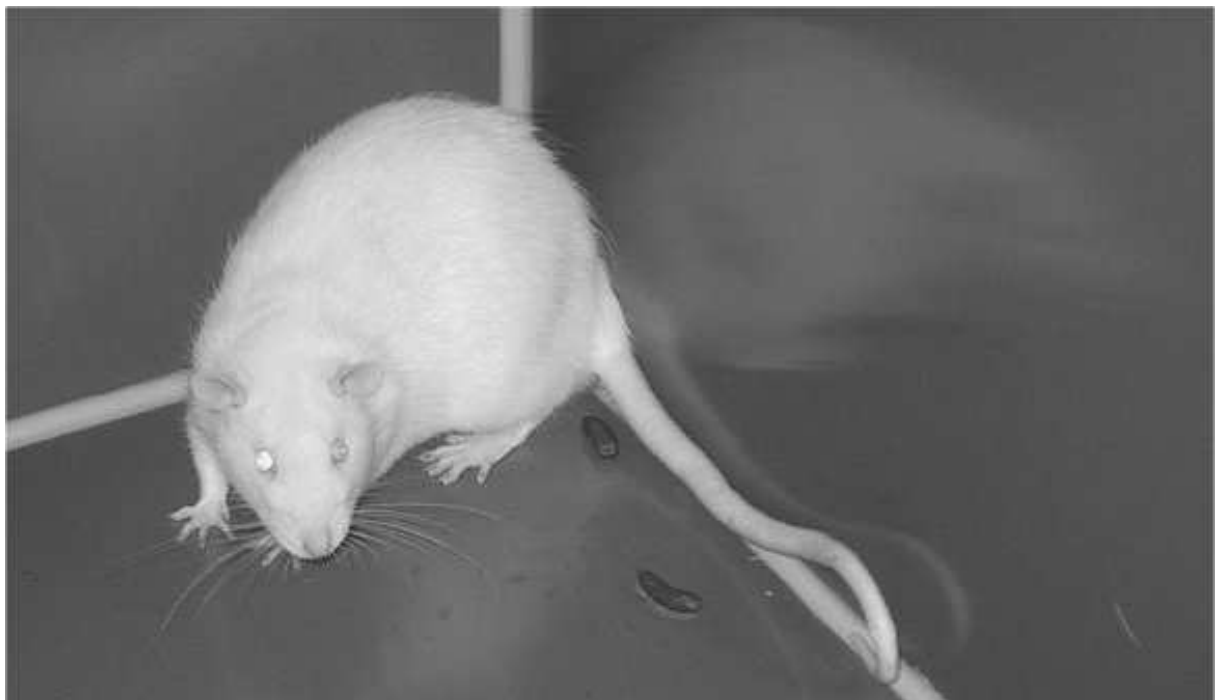


Abb. 3: 130 Tage alte Wistar – Ratte (MK-801 II.Gen,) in einer Ecke des Open Field (OF)

## 2.5 Elevated Plus Maze

Die Plattform des Elevated Plus Maze besteht aus dunkelgrauem Kunststoff und befindet sich 90 cm über dem Boden. Ihr Zentrum (15 x 15 cm) ist mit vier Armen (42,5 x 15 cm) verbunden, von denen zwei eine jeweils 39 cm hohe opalfarbene Seiten – und Endwand haben. Die offenen Arme sind dagegen ohne Wände ungeschützt. Die Aufzeichnungen und Auswertungen der Bewegungen erfolgten ebenfalls mit dem Computerprogramm Etho Vision Basic (Fa. Noldus, Niederlande). Für eine genauere Analyse des Verhaltens wurde das Areal der Elevated Plus Maze in Zentrum, Offene Arme, Distale Offene Arme, Geschlossene Arme und Distale Geschlossene Arme aufgeteilt (Abb. 4). Folgende Parameter wurden ermittelt: Die Gesamtstrecke (m), die Durchschnittsgeschwindigkeit (cm/sec), die Häufigkeit und die Dauer (sec) der Aufenthalte der Versuchstiere in den einzelnen Bereichen und die Latenz des ersten Erreichens (sec) der einzelnen Bereiche. Weiterhin wurden während des Versuchs die Verhaltensweisen Aufrichten („rearing“), Putzen („grooming“) und über den Rand der offenen Arme schauen („head stretching“) vom Versuchsleiter manuell über die Tastatur eingegeben und anschließend offline ausgewertet.

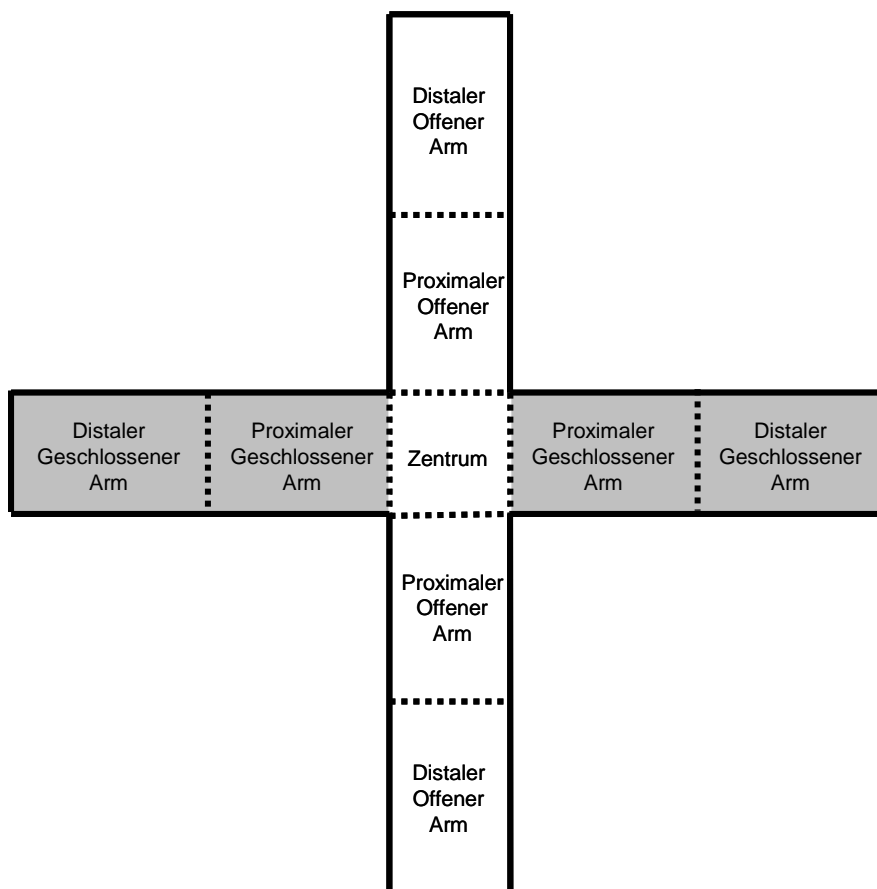


Abb. 4: Schema zur Darstellung des Elevated Plus Maze (EPM). Einteilung in Offene Arme (gefährlich), Zentrum (neutral) und Geschlossene Arme (sicher)



Abb. 5: 130 Tage alte Wistar – Ratte in einem geschlossenen Arm des Elevated Plus Maze (EPM)

## 2.6 Forced Swim Test

Beim Forced Swim Test wurden jeweils ein Kontrolltier und ein MK-801 II.Gen. Tier gleichzeitig für fünf Minuten in zylindrische Wasserbehälter (Ø 15,0 cm) gesetzt und ihr Verhalten auf Video aufgezeichnet. Zwischen den beiden Behältern befand sich ein Sichtschutz. Die Aktivitäten im Wasser wurden aufgeteilt in die drei Kategorien Schwimmen (struggling), Treiben (floating) und Tauchen (diving) und bei der anschließenden Videoauswertung im Sekundentakt festgehalten. Für die drei Parameter wurden die Größen Gesamtdauer, das erste Einsetzen und die Häufigkeit bestimmt.

## 2.7 Statistik

Für die statistische Analyse der unterschiedlichen Verhaltensweisen zwischen den beiden Versuchsgruppen (Kontrolltiere und MK-801 II.Gen.) wurde der Wilcoxon-Mann-Whitney Test verwendet. Zum Erkennen altersabhängiger Unterschiede innerhalb der Versuchsgruppen diente der Kruskal-Wallis Test. Weiterhin wurden bei Bedarf alle Altersgruppen innerhalb einer Versuchsgruppe paarweise mit dem Dunn Test unter Verwendung der Holm alpha Korrektur miteinander verglichen. Für alle Tests wurde  $p < 0,05$  als signifikant festgelegt. Die Anzahl der Tiere pro Gruppe war  $n = 9$ .

## 2.8 Tötung der Tiere

Nach Ablauf der Experimente wurden alle Tiere getötet und fachgerecht entsorgt.



### 3 Ergebnisse

In den nachfolgend beschriebenen Versuchen kam es nur sehr vereinzelt zu direkten Unterschieden zwischen Kontrolltieren und MK-801 II.Gen. Deswegen wird in den folgenden Kapiteln nicht näher darauf eingegangen, sondern der Fokus auf die Altersentwicklung und die Reaktion auf Stress (Forced Swim Test) in den beiden Versuchsgruppen gelenkt.

#### 3.1 Physiologie der Tiere

Eine Woche vor Beginn der Versuche wurden alle Ratten gewogen. In den jüngeren Altersgruppen (70d, 100d und 130d) besaßen die Kontrolltiere ein signifikant höheres Körpergewicht als die MK-801 II.Gen. Tiere gleichen Alters (Abb. 6a). Das höhere Körpergewicht bei den Kontrolltieren stand zum Teil in Verbindung mit einer höheren Futteraufnahme im Vergleich zu den MK-801 II.Gen Tieren (Abb. 6b). Im Trinkverhalten zeigten sich keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen.

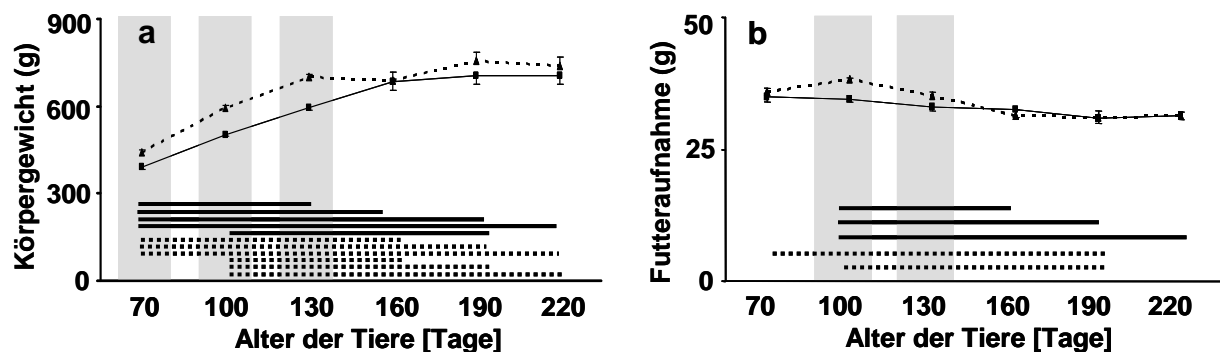


Abbildung 6: Körpergewicht der Tiere (a) und Futteraufnahme der Tiere (b)

- Ctrl, Tag 1      ▲ MK-801, Tag 1
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen der Ctrl (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- .... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen der MK-801 II.Gen. (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen Ctrl und MK-801 II.Gen. (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

## 3.2 Open Field

### 3.2.1 Zurückgelegte Distanz

Die zurückgelegte Gesamtstrecke in der Open Field Maze erfuhr von OF 1 (Open Field Experiment 1) zu OF 2 (Open Field Experiment 2) nach dem Forced Swimming eine signifikante Reduktion in beiden Tiergruppen (Abb. 7). Während in der MK-801 II.Gen. Gruppe diese Veränderungen in allen Altersgruppen ersichtlich waren, beschränkten sie sich bei den Kontrolltieren auf die älteren drei Gruppen (160d, 190d und 220d). Signifikante Altersunterschiede innerhalb der Tiergruppen gab es nur bei den Kontrolltieren im OF 2. Hier sank die zurückgelegte Gesamtstrecke mit zunehmendem Alter, was sich im Vergleich zwischen den 70d und den 220d alten, bzw. den 100d und den 220d alten Tieren auch als signifikant erwies.

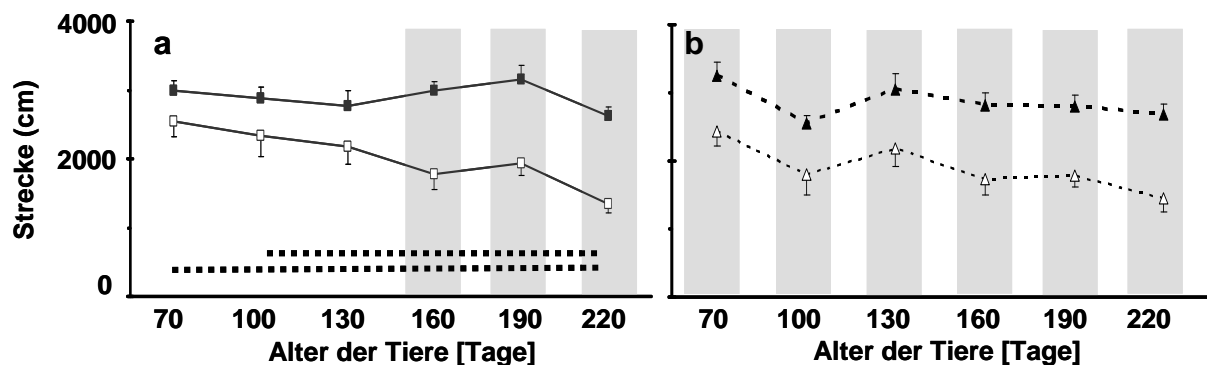


Abbildung 7: Zurückgelegte Gesamtstrecke im OF bei Nachkommen von CTRL- (a) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b)

- Ctrl, OF 1   □ Ctrl, OF 2   ▲ MK-801, OF 1   △ MK-801, OF 2
- Signifikanz zwischen OF 1 und OF 2 (Wilcoxon-Test,  $p < 0,03$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen in OF 1 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- .... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen in OF 2 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

### 3.2.2 Mittlere Geschwindigkeit

Ähnlich wie bei der zurückgelegten Gesamtstrecke gab es auch bei der mittleren Geschwindigkeit der Fortbewegung signifikante Differenzen innerhalb der beiden Tiergruppen zwischen OF 1 vor und OF 2 nach dem Forced Swimming. Während in der MK-801 II.Gen. Gruppe diese Veränderungen in allen Altersgruppen vorhanden waren, beschränkten sie sich bei den Kontrolltieren auf die vier älteren Gruppen (Abb. 8). Signifikante Altersunterschiede innerhalb der Tiergruppen gab es nur bei den Kontrolltieren im OF 2. Hier reduzierte sich die mittlere Geschwindigkeit mit zunehmendem Alter, was sich

im Vergleich zwischen den 70d und den 220d alten, bzw. den 100d und den 220d alten Tieren auch als signifikant erwies.

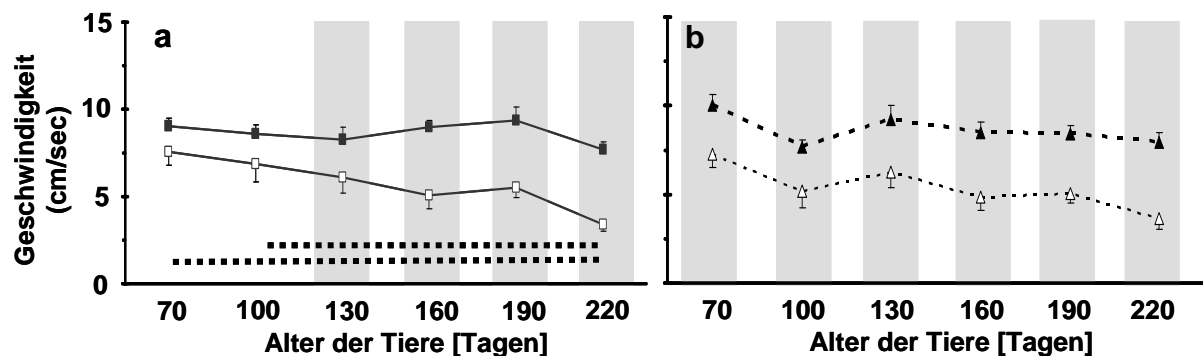


Abbildung 8: Geschwindigkeit im OF bei Nachkommen von CTRL- (a) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b)

- Ctrl, OF 1    □ Ctrl, OF 2    ▲ MK-801, OF 1    △ MK-801, OF 2
- Signifikanz zwischen OF 1 und OF 2 (Wilcoxon-Test,  $p < 0,04$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen in OF 1 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- .... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen in OF 2 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

### 3.2.3 Verharren

Beim direkten Vergleich der Werte von OF 1 und OF 2 nach dem Wilcoxon-Test zeigte sich bei den 160 und 190 Tage alten Kontrolltieren eine signifikant verkürzte Latenz bis zum ersten Verharren im zweiten Experiment, bei den MK-801 II.Gen. bestand diese bei den 190 Tage alten Tieren (Daten nicht gezeigt).

### 3.2.4 Aufenthalt in den Ecken

Die Aufenthaltszeit in den Ecken des Open Fields zeigte im OF 2 nach dem Forced Swimming eine deutliche Verlängerung gegenüber OF 1. Diese war bei den Kontrolltieren und bei den MK-801 II.Gen. in allen Altersgruppen signifikant (Abb. 9). Bei den Kontrolltieren gab es im OF 1 eine Zunahme bei der Aufenthaltsdauer in den Ecken bis zum Alter von 130d mit anschließender Konstanz. Im OF 2 hingegen nahm die Aufenthaltsdauer mit dem Alter stetig zu und erreichte den Höchstwert im Alter von 220 d.

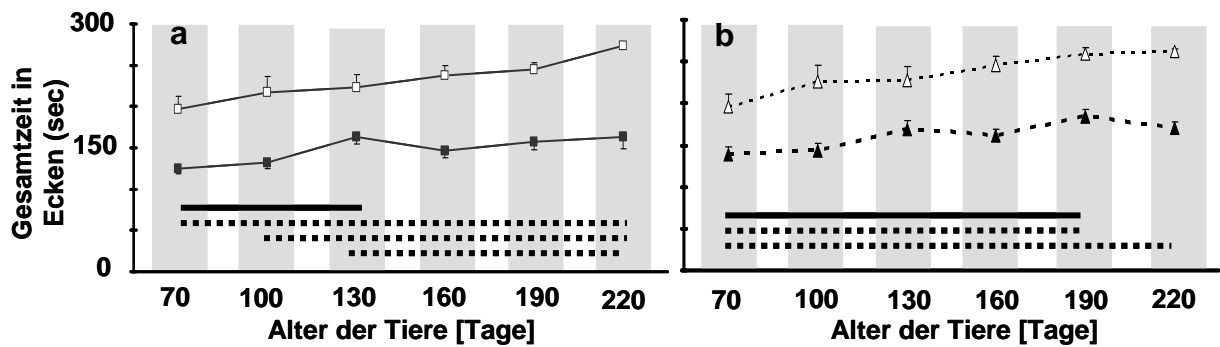


Abbildung 9: Gesamtaufenthaltszeit in den Ecken des OF bei Nachkommen von CTRL- (a) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b)

- Ctrl, OF 1    □ Ctrl, OF 2    ▲ MK-801, OF 1    △ MK-801, OF 2
- Signifikanz zwischen OF 1 und OF 2 ( Wilcoxon-Test,  $p < 0,02$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen in OF 1 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- .... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen in OF 2 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

### 3.2.5 Aufenthalt in den Randbereichen

Die Differenz zwischen OF 1 vor und OF 2 nach dem Forced Swimming war bei beiden Versuchsgruppen sehr deutlich (Abb. 10). Statistisch signifikant waren die Kontrolltiere und die MK-801 II.Gen. in vier Altersgruppen im OF 2 insgesamt länger im Randbereich als im OF 1. Es konnte bei den Kontrolltieren eine leichte Zunahme der Aufenthaltsdauer im Randbereich mit steigendem Alter nach dem Forced Swimming festgestellt werden, die bei den MK-801 II.Gen. nicht zu beobachten war. Bezüglich der Durchschnittsdauer der Aufenthalte in den Randbereichen des OF war die deutliche Verlängerung im OF 2 gegenüber OF 1 auffällig, die bei allen Altersgruppen der Kontrolltiere und bei fast allen bis auf die der 130d alten Tiere der MK-801 II.Gen. signifikant war. Innerhalb der Altersgruppen unterschieden sich auch hier die 220d alten Kontrollen im OF 2 signifikant von den 70d alten und zeigten damit eine deutliche Verlängerung ihrer Aufenthalte in den Randbereichen mit steigendem Alter, die bei den MK-801 II.Gen. nicht so ausgeprägt vorhanden war.

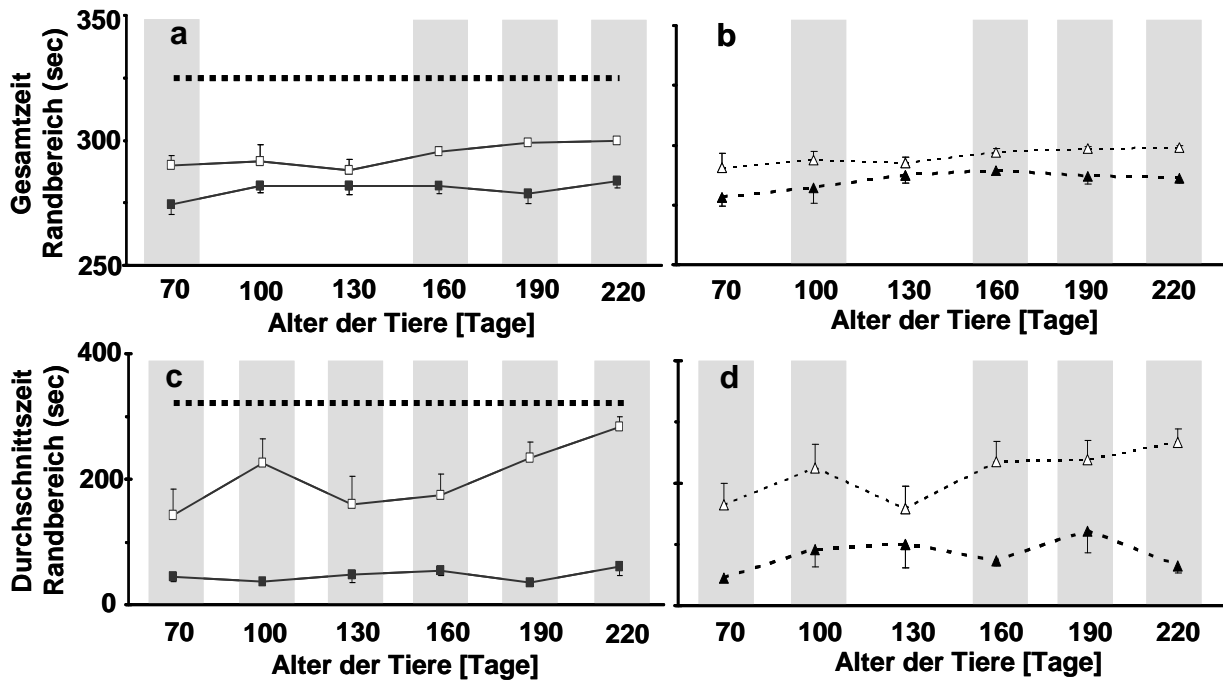


Abbildung 10: Gesamtaufenthaltszeit im Randbereich des OF bei Nachkommen von CTRL- (a) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b); durchschnittliche Aufenthaltsdauer Randbereich des OF bei Nachkommen von CTRL- (c) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (d).

- Ctrl, OF 1    □ Ctrl, OF 2    ▲ MK-801, OF 1    △ MK-801, OF 2
- Signifikanz zwischen OF 1 und OF 2 (Wilcoxon-Test,  $p < 0,03$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen in OF 1 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- .... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen in OF 2 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

### 3.2.6 Aufenthalt im Zentrum

Der Vergleich von OF 1 und OF 2 zeigte, dass alle Tiere im OF 2 insgesamt weniger Zeit im Zentrum verbrachten als in OF 1. Statistisch signifikant wurde diese Differenz bei den Kontrolltieren und bei den MK-801 II.Gen. in jeweils vier Altersgruppen (Abb. 11). Innerhalb der Gruppen unterschieden sich nur die 220d alten Kontrollen im OF 2 mit einem signifikant kürzeren Aufenthalt im Zentrum von den 70d alten. In Bezug auf die Häufigkeit der Aufenthalte im Zentrum gab es bei den Kontrolltieren im OF 2 ab dem Alter von 130d eine deutliche Reduzierung, die durch den signifikanten Unterschied zwischen den 70d und den 220d alten Tieren bestätigt wurde. Bei den MK-801 II.Gen. war diese Verhältnismäßigkeit ähnlich und die 130d alten Tiere waren signifikant häufiger im Zentrum als die 220d alten Tiere. Der Vergleich zwischen OF 1 und OF 2 zeigte, dass Kontrollen und MK-801 II.Gen. in fast allen Altersgruppen (nur die 130d alten Tiere beider Gruppen nicht) signifikant seltener im OF 2 das Zentrum des Open Field betraten. Im statistischen Vergleich zwischen den verschiedenen Altersgruppen mithilfe des Kruskal-Wallis-Tests zeigte sich bei den MK-801

II.Gen., dass es an beiden Versuchstagen zu signifikanten Unterschieden in Bezug auf die Latenz bis zum ersten Eintreffen im Zentrum des OF kam. In OF 1 zögerten die 70d alten MK-801 II.Gen. signifikant länger als die 160d alten, in OF 2 zögerten die 130d alten MK-801 II.Gen. signifikant länger als die 100d alten. Bei den Kontrolltieren kam es zu keinen signifikanten Beobachtungen.

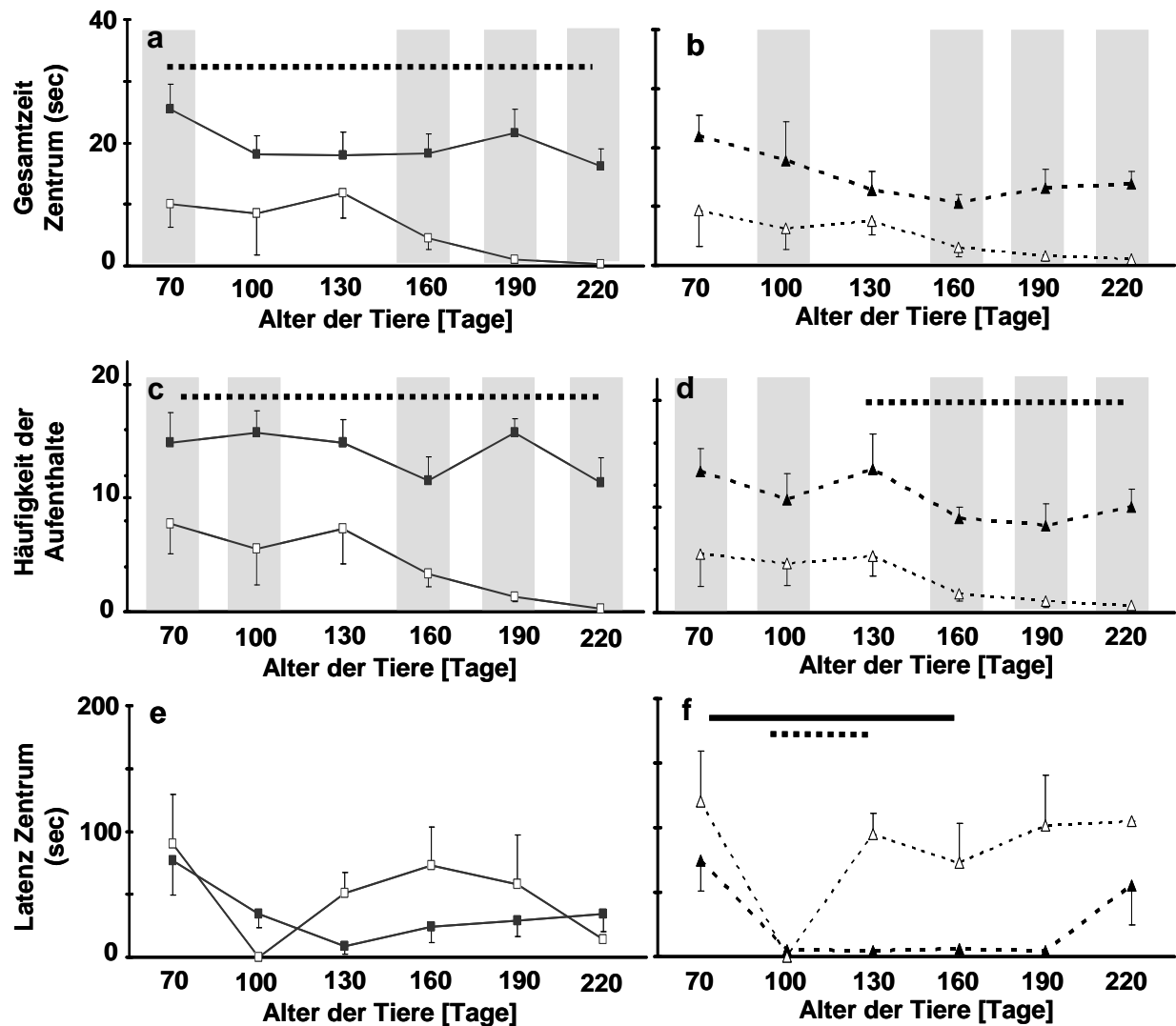


Abbildung 11: Gesamtaufenthaltszeit im Zentrum des OF bei Nachkommen von CTRL- (a) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b); Häufigkeit der Aufenthalte im OF bei Nachkommen von CTRL- (c) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (d); Latenz bis zum ersten Aufenthalt im Zentrum des OF bei Nachkommen von CTRL- (e) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (f)

- Ctrl, OF 1    □ Ctrl, OF 2    ▲ MK-801, OF 1    △ MK-801, OF 2
- Signifikanz zwischen OF 1 und OF 2 ( Wilcoxon-Test,  $p < 0,04$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen in OF 1 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- .... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen in OF 2 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

### 3.2.7 Putzen

Der direkte Vergleich von OF 1 und OF 2 nach Wilcoxon offenbarte eine signifikante Zunahme der Gesamtputzzeit nach dem Forced Swimming bei allen Altersgruppen der MK-801 II.Gen. und bei den Kontrolltieren im Alter von 70d, 100d, 190d und 220d (Abb. 12).

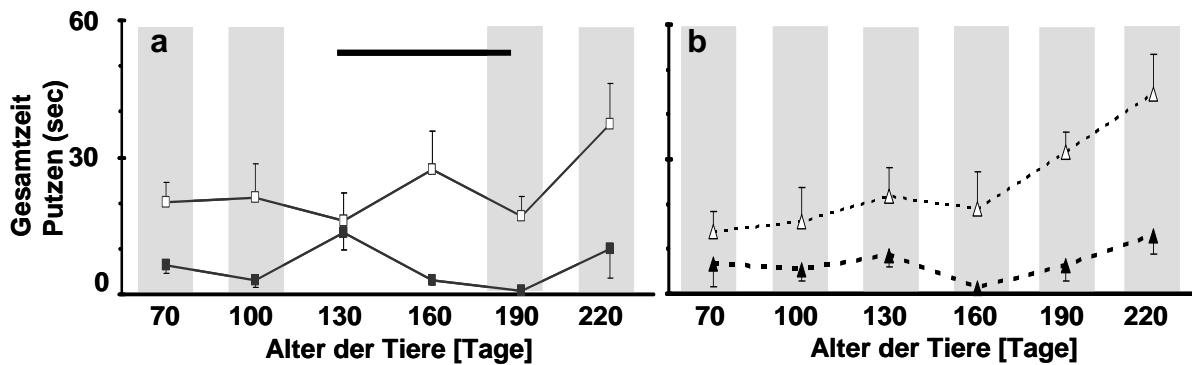


Abbildung 12: Gesamtzeit Putzen im OF bei Nachkommen von CTRL- (a) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b)

- Ctrl, OF 1    □ Ctrl, OF 2    ▲ MK-801, OF 1    △ MK-801, OF 2
- Signifikanz zwischen OF 1 und OF 2 (Wilcoxon-Test,  $p < 0,032$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen in OF 1 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- .... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen in OF 2 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

### 3.2.8 Aufrichten

Beim Vergleich beider Versuchstage nach Wilcoxon ergab sich, dass sich die Kontrolltiere aller Altersgruppen im OF 2 signifikant seltener aufrichteten als in OF 1, während dies bei den MK-801 II.Gen. im Alter von 100 und 130 Tagen nicht der Fall war. Im OF 2 war bei den Kontrolltieren eine Reduktion des Aufrichtens mit zunehmendem Alter zu erkennen, das beim Vergleich der 100d alten Tiere mit den 220d alten signifikant deutlich wurde (Abb. 13). Die Latenz bis zum erstmaligem Aufrichten war bei den Kontrolltieren nur im Alter von 220 Tagen im OF 2 signifikant später als im OF 1, wohingegen dies bei den MK-801 II.Gen. in fast allen Altersgruppen zu sehen war. Innerhalb der Altersgruppen ließ sich des Weiteren feststellen, dass die 70d alten Kontrolltiere im OF 1 länger bis zum erstmaligen Aufrichten zögerten als die älteren Tiere. Auch bei den MK-801 II.Gen. gab es im OF 1 eine starke Reduktion der Latenz über die ersten drei Altersgruppen.

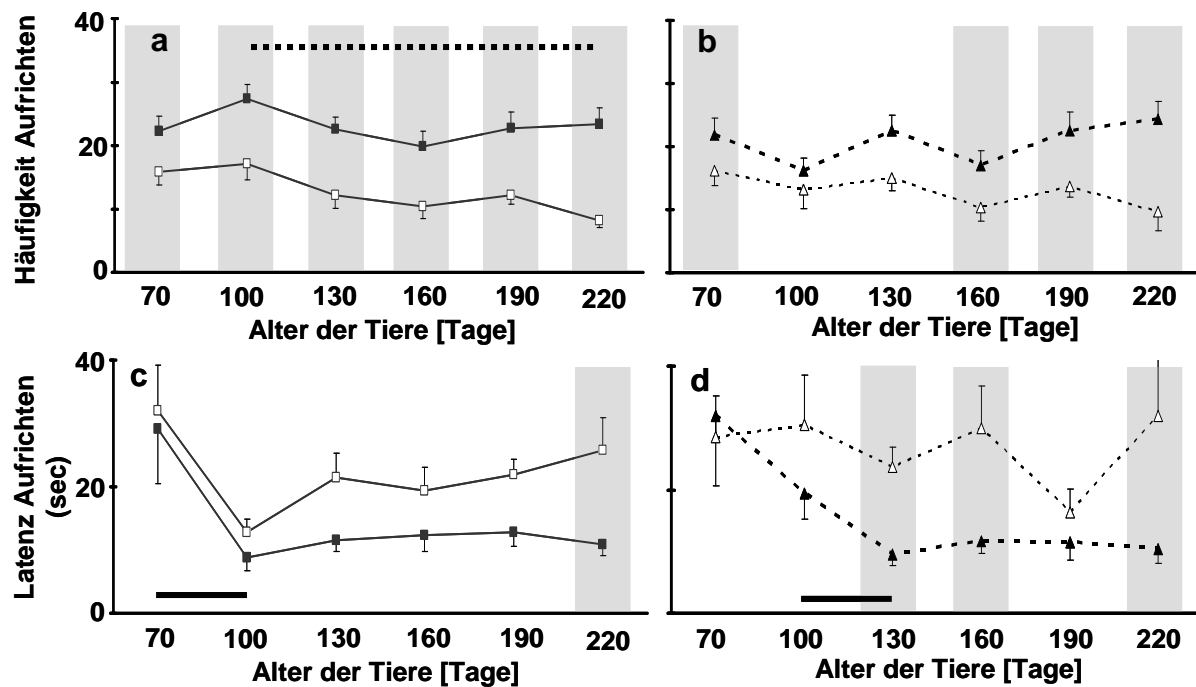


Abbildung 13: Häufigkeit des Aufrichtens im OF bei Nachkommen von CTRL- (a) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b); Latenz bis zum ersten Aufrichten im OF bei Nachkommen von CTRL- (c) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (d).

- Ctrl, OF 1   □ Ctrl, OF 2   ▲ MK-801, OF 1   △ MK-801, OF 2
- Signifikanz zwischen OF 1 und OF 2 (Wilcoxon-Test,  $p < 0,04$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen in OF 1 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- .... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen in OF 2 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

### 3.2.9 Zusammenfassung

Insgesamt gesehen zeigten die Kontrolltiere und die MK-801 II.Gen. in den jüngeren drei Altersgruppen ein sehr ähnliches Verhalten in der Open Field Maze. Ungefähr ab dem Alter von 130 Tagen äußerte sich bei den Kontrolltieren bei vielen Parametern eine veränderte Reaktion auf Stress (Forced Swimming), die bei den MK-801 II.Gen. nicht gegeben war. Diese offenbarte sich als deutliche Reduktion in Bezug auf die zurückgelegte Gesamtstrecke, die mittlere Geschwindigkeit, sowie in weniger ausgeprägter Form als Zunahme der Aufenthaltszeiten in Rand- und Eckbereichen und Abnahme der Zeit in der Zentralzone. In Bezug auf das Verharren und das Putzverhalten reagierten die beiden Versuchsgruppen ähnlich mit einer Verringerung ihrer Aktivität nach dem Forced Swim Test. Die Häufigkeit des Aufrichtens im OF wurde von den Kontrolltieren in allen Altersgruppen nach dem Forced Swimming signifikant reduziert, während die MK-801 II.Gen. mittleren Alters dieses Verhalten nicht signifikant veränderten.



### 3.3 Elevated Plus Maze

#### 3.3.1 Zurückgelegte Distanz

Im EPM 2 (Elevated Plus Maze Experiment 2) nach dem Forced Swimming war bei den Kontrolltieren eine Abnahme der zurückgelegten Distanz gegenüber der von EPM 1 in beiden Gruppen auffällig (Abb. 14). Diese Differenz war bei den Kontrolltieren und bei den MK-801 II.Gen. in jeweils vier Altersgruppen statistisch signifikant. Des Weiteren war bei den Kontrolltieren im EPM 2 eine Abnahme der zurückgelegten Distanz ab dem Alter von 160d feststellbar, die statistisch durch den Vergleich der 220d alten Tiere mit den 100d und den 130d alten als signifikant bestätigt wurde. In EPM 1 gab es hingegen keine Altersunterschiede. Bei den MK-801 II.Gen. kam es im EPM 2 ebenfalls zu einer signifikanten Reduktion der zurückgelegten Distanz ab einem Alter von 160d.

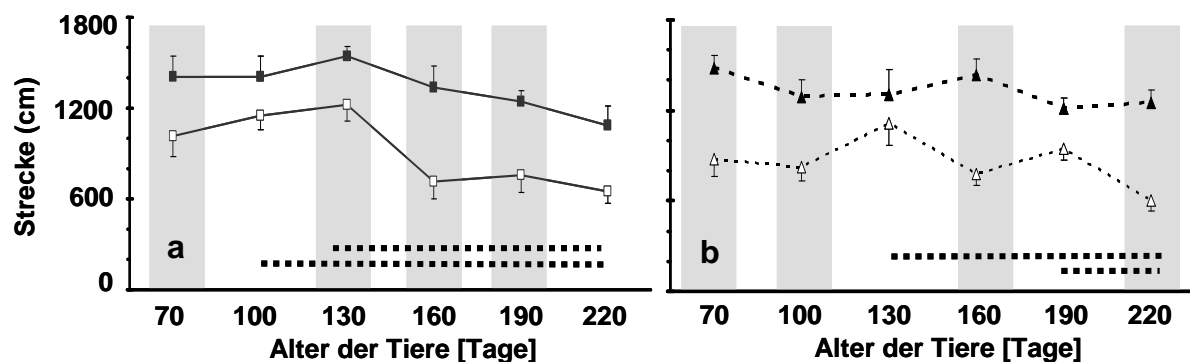


Abbildung 14: Gesamtstrecke im EPM bei Nachkommen von CTRL- (a) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b)

- Ctrl, EPM 1   □ Ctrl, EPM 2   ▲ MK-801, EPM 1   △ MK-801, EPM 2
- Signifikanz zwischen EPM 1 und EPM 2 ( Wilcoxon-Test,  $p < 0,04$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 1 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- .... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 2 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

#### 3.3.2 Mittlere Geschwindigkeit

Im EPM 2 war eine nachlassende Geschwindigkeit in beiden Gruppen gegenüber dem EPM 1 ersichtlich (Abb. 15). Signifikant war diese bei den Kontrolltieren und bei den MK-801 II.Gen. in fünf bzw. vier Altersgruppen. Weiterhin war bei den Kontrolltieren und den MK-801 II.Gen. eine stetig nachlassende Durchschnittsgeschwindigkeit im Elevated Plus Maze mit steigendem Alter ab einem Alter von 160d feststellbar, die jeweils durch den signifikanten Unterschied zwischen 130d und 220d alten Tieren bestätigt wurde.

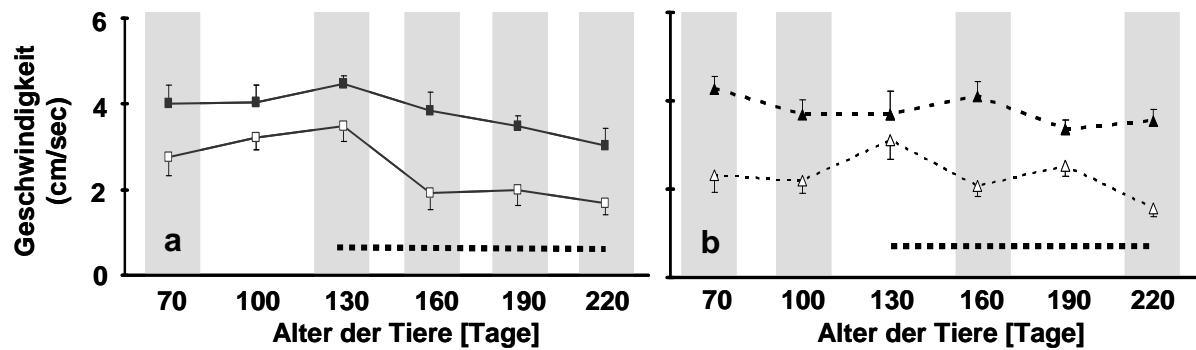


Abbildung 15: Geschwindigkeit im EPM bei Nachkommen von CTRL- (a) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b)

- Ctrl, EPM 1   □ Ctrl, EPM 2   ▲ MK-801, EPM 1   △ MK-801, EPM 2
- Signifikanz zwischen EPM 1 und EPM 2 (Wilcoxon-Test,  $p < 0,03$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 1 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- .... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 2 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

### 3.3.3 Verharren

Durchschnittlich waren sich Kontrolltiere und MK-801 II.Gen. an beiden Versuchstagen sehr ähnlich in Bezug auf die Gesamtzeit, die sie im Elevated Plus Maze verharreten (Abb. 16). Beim Vergleich der Gesamtzeiten von EPM 1 vor mit denen von EPM 2 nach dem Forced Swimming fiel auf, dass die Kontrollen nur in 3 Altersgruppen nach dem Wilcoxon-Test signifikant die Dauer des Verharrens im EPM 2 gesteigert haben, während dies bei den MK-801 II.Gen. in 5 Altersgruppen geschah. Im EPM 2 war bei den Kontrolltieren und den MK-801 II.Gen. ein verlängertes Verharren im Elevated Plus Maze mit steigendem Alter ab dem Alter von 160d ersichtlich, das im Vergleich zwischen den 130d und den 220d alten Tieren in beiden Gruppen signifikant war. Beim Betrachten der Durchschnittsdauer der jeweiligen Aufenthalte bestätigte der Vergleich der beiden Versuchstage nach dem Wilcoxon-Test, dass die Kontrollen nur in 3 Altersgruppen signifikant die Durchschnittsdauer der Intervalle für das Verharren im EPM 2 gegenüber EPM 1 steigerten, während dies bei den MK-801 II.Gen. in fast allen Altersgruppen geschah. Weiterhin fiel im EPM 2 bei den Kontrolltieren ein verlängertes Verharren im Elevated Plus Maze mit steigendem Alter ab dem Alter von 160d auf. Bei den MK-801 II.Gen. zeigte sich dies nur in der ältesten Gruppe.

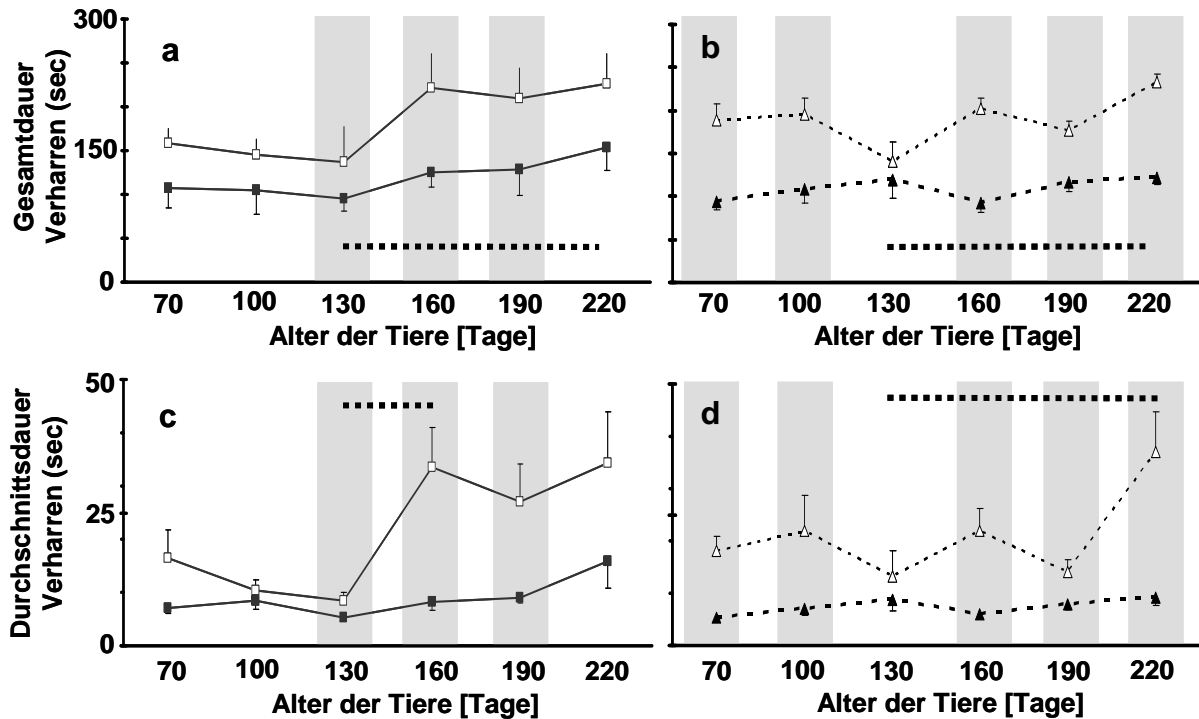


Abbildung 16: Gesamtdauer des Verharrens im EPM bei Nachkommen von CTRL- (a) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b); Durchschnittsdauer Verharren im EPM bei Nachkommen von CTRL- (c) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (d).

- Ctrl, EPM 1   □ Ctrl, EPM 2   ▲ MK-801, EPM 1   △ MK-801, EPM 2
- Signifikanz zwischen EPM 1 und EPM 2 ( Wilcoxon-Test,  $p < 0,03$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 1 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- .... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 2 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

### 3.3.4 Aufenthalt in den geschlossenen Armen

Im Vergleich von EPM 1 und EPM 2 mithilfe des Wilcoxon-Tests zeigte sich, dass sich die Kontrollen nach dem FST in nur drei Altersgruppen (100d, 160d und 220d) signifikant länger in den geschlossenen Armen aufhielten, während dies bei den MK-801 II.Gen. in 5 Altersgruppen (70d, 100d, 130d, 190d und 220d) der Fall war (Abb. 17). Der statistische Vergleich der einzelnen Altersgruppen untereinander stellte eine steigende Aufenthaltszeit der Kontrolltiere in den geschlossenen Armen mit zunehmendem Alter dar, die an beiden Versuchstagen zwischen den 130d und den 190d alten Tieren signifikant war. Auch in Bezug auf die Durchschnittszeit der Aufenthalte in den geschlossenen Armen bestätigte sich bei den Kontrolltieren eine Zunahme mit steigendem Alter. Im EPM 1 war dieser im Vergleich zwischen 130d und 190d alten Tieren statistisch signifikant. Im EPM 2 gab es einen sprunghaften Anstieg von 130d auf 160d mit einem anschließend konstanten Niveau. Bei den MK-801 II.Gen. gab es keine altersgebundenen Veränderungen.

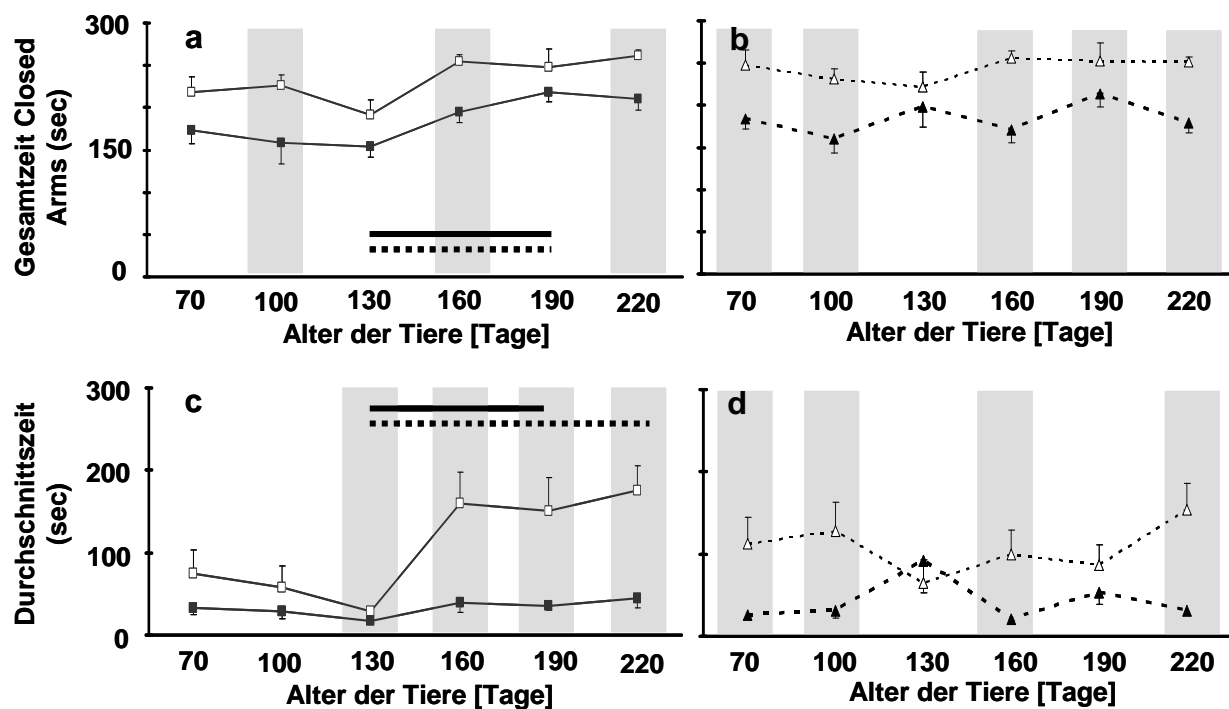


Abbildung 17: Gesamtaufenthaltszeit in den Closed Arms des EPM bei Nachkommen von CTRL- (a) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b); durchschnittliche Aufenthaltsdauer in den Closed Arms des EPM bei Nachkommen von CTRL- (c) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (d).

- Ctrl, EPM 1   □ Ctrl, EPM 2   ▲ MK-801, EPM 1   △ MK-801, EPM 2
- Signifikanz zwischen EPM 1 und EPM 2 (Wilcoxon-Test,  $p < 0,03$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 1 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- .... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 2 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

### 3.3.5 Aufenthalt in den distalen geschlossenen Armen

Beide Versuchsgruppen zeigten im EPM 2 einen deutlich längeren Aufenthalt in den distalen geschlossenen Armen als im EPM 1 (Abb. 18). Signifikant war dieser Unterschied bei den Kontrollen in vier Altersgruppen, bei den MK-801 II.Gen. in fünf Altersgruppen. Die größte Auffälligkeit in Bezug auf die Gesamtzeit in den distalen geschlossenen Armen zeigten die Kontrolltiere, welche sich an beiden Versuchstagen ab dem Alter von 130d sehr viel häufiger dort aufhielten als die Jüngeren. Bei den MK-801 II.Gen. waren keine signifikanten Altersunterschiede feststellbar. Die Durchschnittsdauer der Aufenthalte in den distalen geschlossenen Armen war bei den Kontrolltieren in 5 und bei Mk-801 II.Gen. in 4 Altersgruppen im EPM 2 nach dem Forced Swimming signifikant länger als im EPM 1. Ebenso hielten sich in beiden Gruppen im EPM 2 die 220d alten Tiere signifikant länger dort auf als die 130d alten. Beide Gruppen gingen im EPM 2 seltener in die distalen geschlossenen Arme als im EPM 1, die Kontrolltiere in 3 Altersgruppen signifikant, die MK-

801 II.Gen. in 4 Altergruppen. Bezüglich der Häufigkeit der Aufenthalte in den distalen geschlossenen Armen war bei den Kontrolltieren eine altersgebundene Reduktion feststellbar, bei den MK-801 II.Gen. gab es keine Altersdifferenzen.

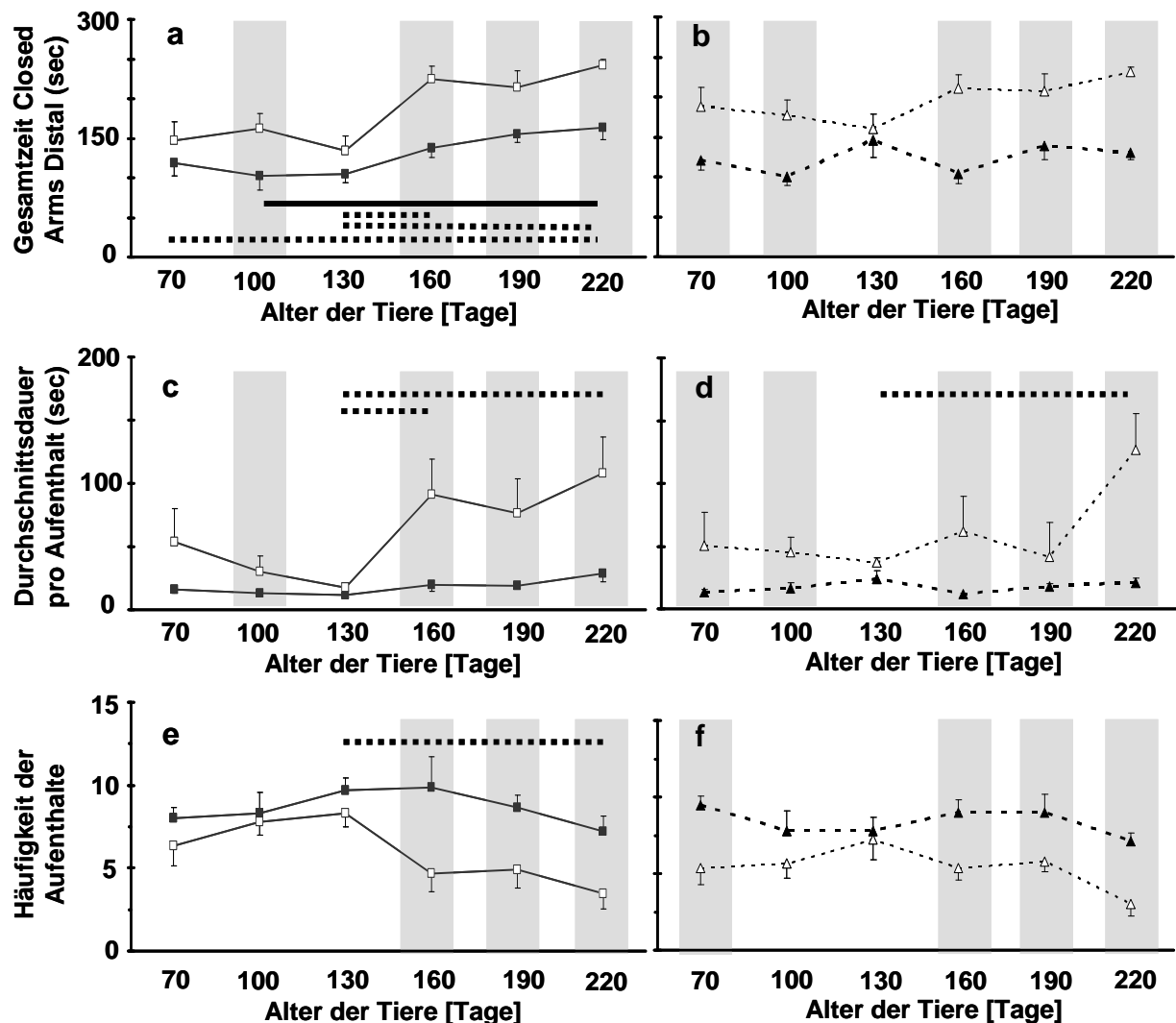


Abbildung 18: Gesamtaufenthaltszeit in den Distal Closed Arms des EPM bei Nachkommen von CTRL- (a) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b); durchschnittliche Aufenthaltsdauer in den Distal Closed Arms des EPM bei Nachkommen von CTRL- (c) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (d); Häufigkeit der Aufenthalte in den Distal Closed Arms des EPM bei Nachkommen von CTRL- (e) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (f)

- Ctrl, EPM 1   □ Ctrl, EPM 2   ▲ MK-801, EPM 1   △ MK-801, EPM 2
- Signifikanz zwischen EPM 1 und EPM 2 (Wilcoxon-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 1 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- .... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 2 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

### 3.3.6 Aufenthalt im Zentrum

Die beiden Versuchsgruppen hielten sich im EPM 1 wesentlich länger im Zentrum auf als im EPM 2 (Abb. 19). Statistisch signifikant war diese Differenz nach Wilcoxon bei den Kontrolltieren und bei den MK-801 II.Gen. in vier Altersgruppen. Im statistischen Vergleich zwischen den verschiedenen Altersgruppen zeigte sich bei den Kontrolltieren im EPM 2 eine kontinuierliche Reduktion der Aufenthaltsdauer im Zentrum ab dem Alter von 160d. Bei den MK-801 II.Gen. war eine solche Entwicklung im EPM 2 nicht feststellbar. Im EPM 1 zeigten lediglich die 220d alten MK-801 II.Gen. gegenüber den 100d alten eine kürzere Aufenthaltsdauer im Zentrum des Elevated Plus Maze. Die Häufigkeit der Aufenthalte im Zentrum verringerte sich bei beiden Gruppen im EPM 2 gegenüber EPM 1. Dabei fiel auf, dass nur die drei ältesten Gruppen der Kontrollen im EPM 2 signifikant seltener das Zentrum betraten als im EPM 1. Die MK-801 II.Gen. taten dies dagegen im Alter von 70, 100, 160 und 220 Tagen. Des Weiteren war bei den Kontrolltieren ein kontinuierlicher Rückgang der Aufenthalte mit zunehmendem Alter ab 160d erkennbar. Bei den MK-801 II.Gen. war keine vergleichbare Altersentwicklung zu sehen.

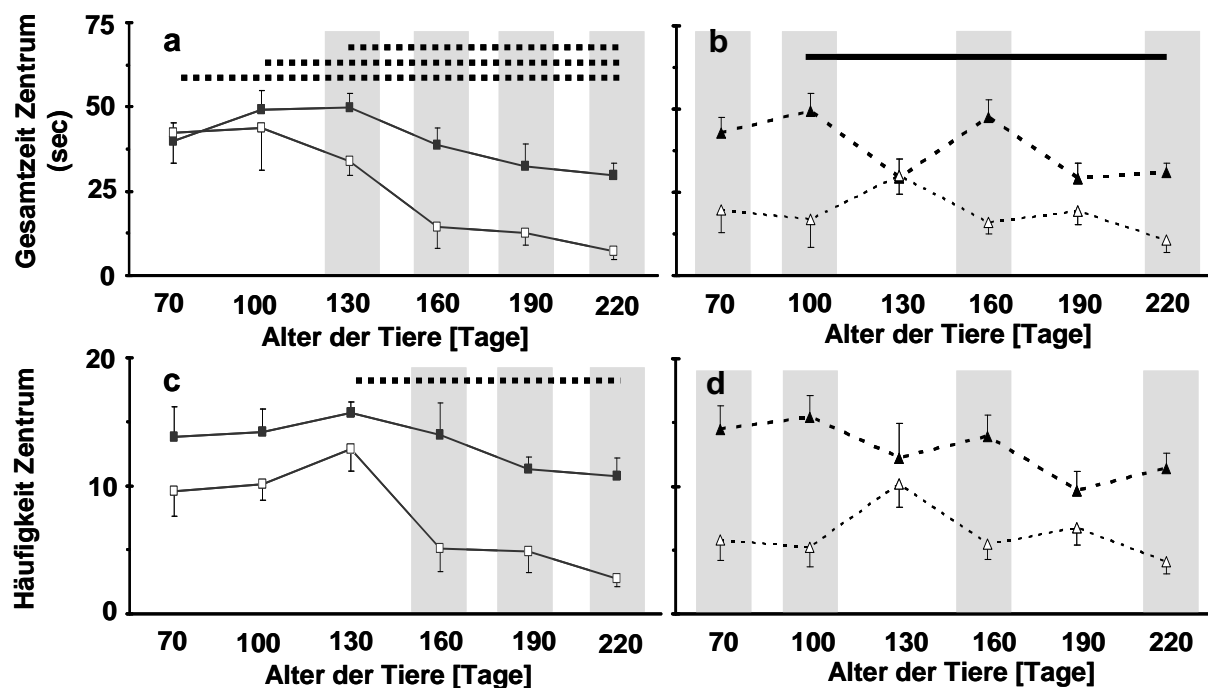


Abbildung 19: Gesamtaufenthaltszeit im Zentrum des EPM bei Nachkommen von CTRL- (a) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b); Häufigkeit der Aufenthalte im Zentrum des EPM bei Nachkommen von CTRL- (c) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (d).

- Ctrl, EPM 1   □ Ctrl, EPM 2   ▲ MK-801, EPM 1   △ MK-801, EPM 2
- Signifikanz zwischen EPM 1 und EPM 2 (Wilcoxon-Test,  $p < 0,02$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 1 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- .... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 2 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

### 3.3.7 Aufenthalt in den offenen Armen

Der Vergleich von EPM 1 und EPM 2 nach Wilcoxon zeigte, dass sich die Gesamtzeit der Aufenthalte bei den Kontrolltieren in 2 Altersgruppen (70d und 160d) signifikant verkürzte (Abb. 20). Bei den MK-801 war dies in fast allen Altersgruppen (70d, 100d, 130d, 190d und 220d) deutlich der Fall. Unterschiede bezüglich der Durchschnittsdauer zwischen den beiden Versuchsgruppen zeigten sich im Vergleich der beiden Versuchstage nach Wilcoxon. Demnach verringerten die Kontrolltiere ihre Aufenthalte in den offenen Armen im EPM 2 gegenüber EPM 1 in drei Altersgruppen, wohingegen die MK-801 II.Gen. dies in 4 Altersgruppen taten.

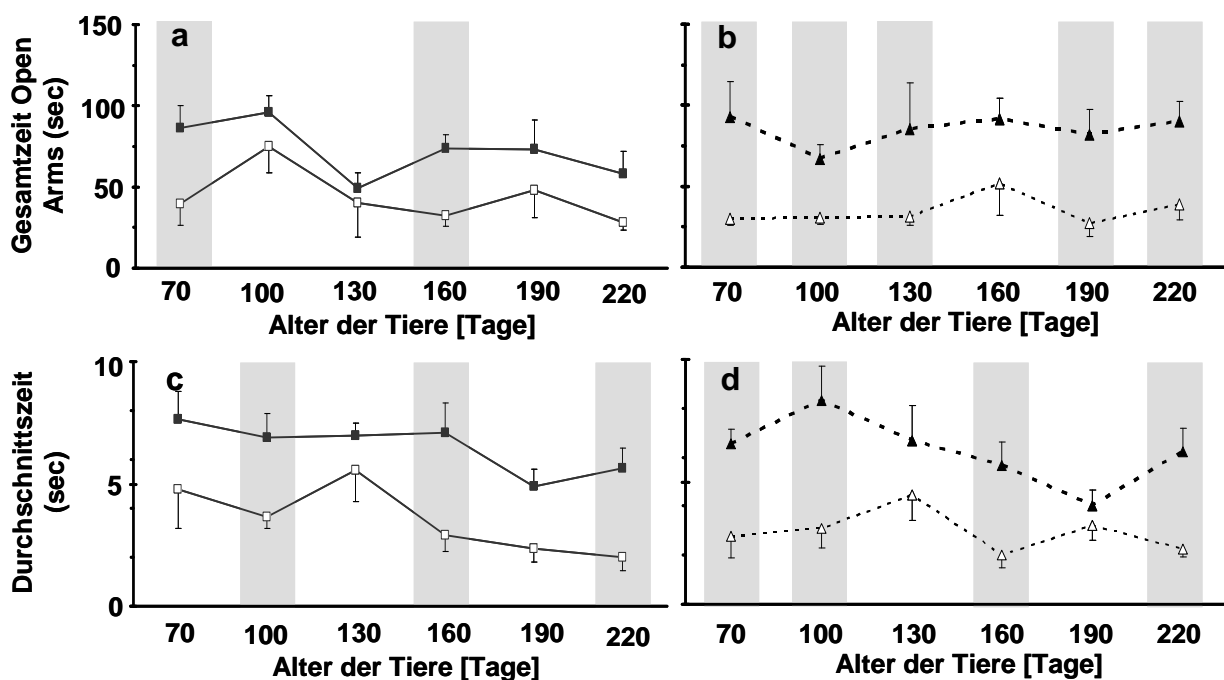


Abbildung 20: Gesamtaufenthaltszeit in den Open Arms des EPM bei Nachkommen von CTRL- (a) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b); Durchschnittszeit der Aufenthalte in den Open Arms des EPM bei Nachkommen von CTRL- (c) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (d).

- Ctrl, EPM 1   □ Ctrl, EPM 2   ▲ MK-801, EPM 1   △ MK-801, EPM 2
- Signifikanz zwischen EPM 1 und EPM 2 (Wilcoxon-Test,  $p < 0,04$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 1 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- ... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 2 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

### 3.3.8 Aufenthalt in den distalen offenen Armen

Die verbrachte Gesamtzeit in den distalen offenen Armen erfuhr zwischen EPM 1 und EPM 2 eine Reduktion, die sich bei den Kontrollen im Alter von 70d als signifikant erwies, bei den MK-801 II.Gen. im Alter von 70d und 160d (Abb. 21). Beim Vergleich der Durchschnittsdauer der Aufenthalte zwischen EPM 1 und EPM 2 innerhalb einer Gruppe fiel auf, dass nur die

100d alten Tiere der Kontrollen im EPM 2 signifikant seltener die distalen Enden der offenen Arme betraten als im EPM 1. Die MK-801 II.Gen. zeigten diesbezüglich keine signifikant unterschiedlichen Werte. Die Häufigkeit der Aufenthalte reduzierte sich bei beiden Gruppen in EPM 2 gegenüber EPM 1. Bei den Kontrolltieren war diese in 3 Altersgruppen statistisch signifikant, bei den MK-801 II.Gen. in 4 Altersgruppen.

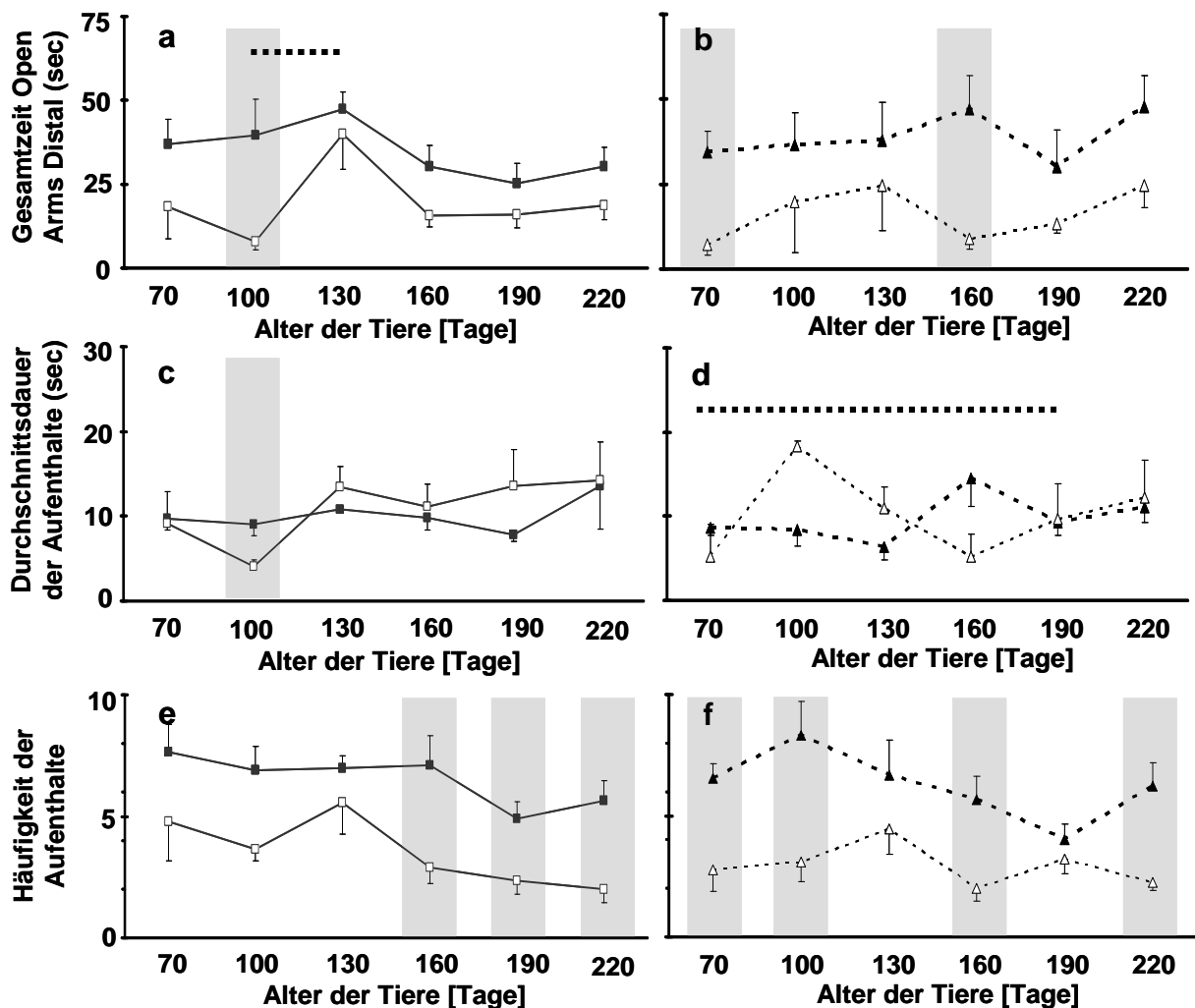


Abbildung 21: Gesamtaufenthaltszeit in den Distal Open Arms des EPM bei Nachkommen von CTRL- (a) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b); Durchschnittsdauer der Aufenthalte in den Distal Open Arms des EPM bei Nachkommen von CTRL- (c) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (d). Häufigkeit der Aufenthalte in den Distal Open Arms des EPM bei Nachkommen von CTRL- (e) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (f).

- Ctrl, EPM 1   □ Ctrl, EPM 2   ▲ MK-801, EPM 1   △ MK-801, EPM 2
- Signifikanz zwischen EPM 1 und EPM 2 ( Wilcoxon-Test,  $p < 0,04$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 1 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- .... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 2 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )



### 3.3.9 Aufrichten

Nach dem Forced Swimming richteten sich im EPM 2 nur die Kontrolltiere im Alter von 220d signifikant kürzer auf als im EPM 1 (Abb. 22). Die MK-801 II.Gen. im Alter von 70d zeigten dieses Verhalten im EPM 1 signifikant länger als die 190d alten MK-801 II.Gen. Der Vergleich zwischen EPM 1 und EPM 2 innerhalb einer Gruppe nach Wilcoxon machte in Bezug auf die Häufigkeit deutlich, dass sich nur die MK-801 II.Gen. in den Altersgruppen von 70 und 160 Tagen im EPM 2 signifikant seltener aufgerichtet haben als im EPM 1, während die Kontrolltiere unerheblich die Frequenz des Aufrichtens veränderten.

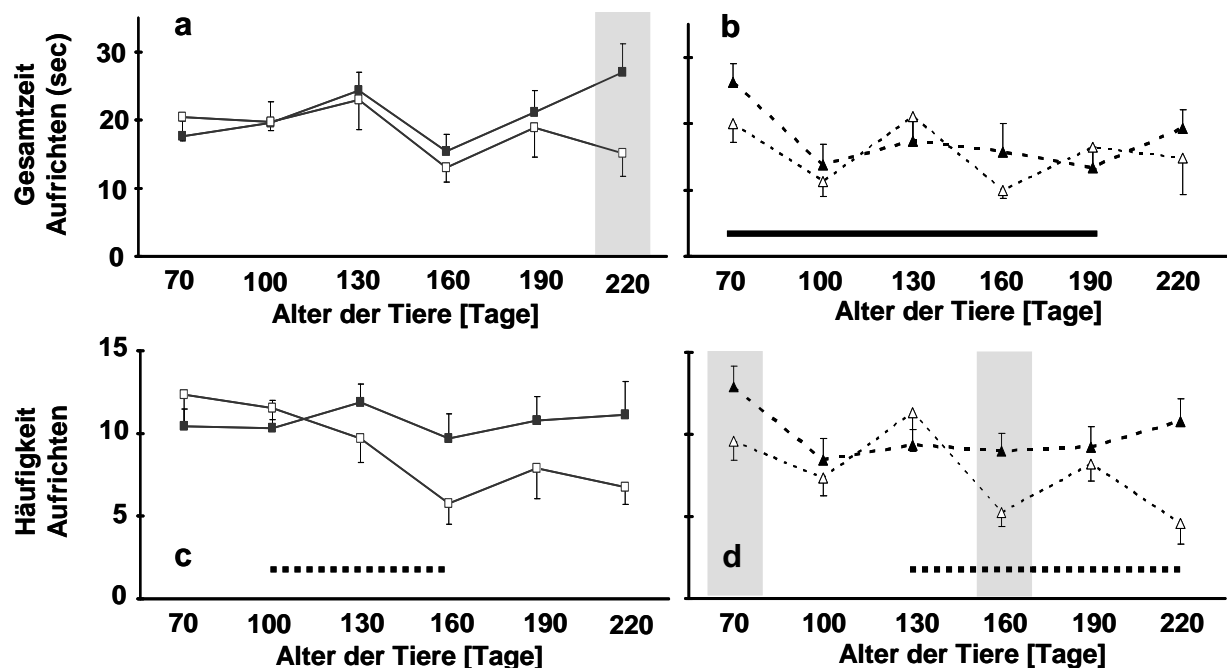


Abbildung 22: Gesamtzeit des Aufrichtens im EPM bei Nachkommen von CTRL- (a) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b); Häufigkeit des Aufrichtens EPM bei Nachkommen von CTRL- (c) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (d).

- Ctrl, EPM 1   □ Ctrl, EPM 2   ▲ MK-801, EPM 1   △ MK-801, EPM 2
- Signifikanz zwischen EPM 1 und EPM 2 ( Wilcoxon-Test,  $p < 0,04$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 1 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- .... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 2 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

### 3.3.10 „Kopf strecken“

Der Vergleich von EPM 1 und EPM 2 zeigte, dass fast alle Altersgruppen im EPM 2 insgesamt deutlich seltener ihren Kopf über den Rand streckten (Abb. 23). Dies erwies sich

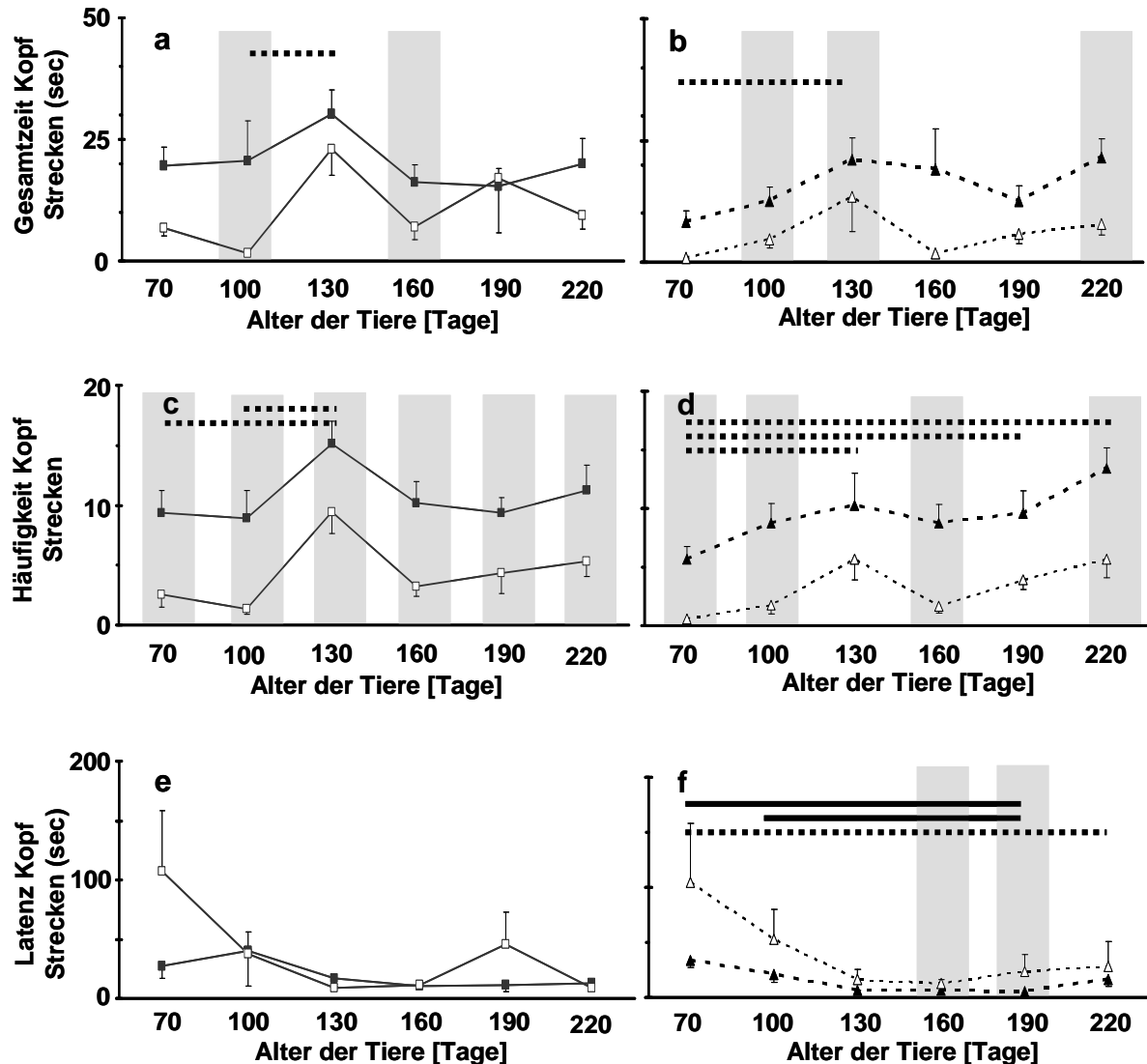


Abbildung 23: Gesamtzeit des Kopf-Streckens im EPM bei Nachkommen von CTRL- (a) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b); Häufigkeit des Kopf-Streckens EPM bei Nachkommen von CTRL- (c) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (d); Latenz bis zum erstmaligen Kopf-Strecken im EPM bei Nachkommen von CTRL- (e) und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (f).

- Ctrl, EPM 1   □ Ctrl, EPM 2   ▲ MK-801, EPM 1   △ MK-801, EPM 2
- Signifikanz zwischen EPM 1 und EPM 2 (Wilcoxon-Test,  $p < 0,04$ ;  $n = 9$ )
- Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 1 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )
- ... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen im EPM 2 (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

bei den Kontrollen in 2 Altersgruppen (100d und 160d) und bei den MK-801 II.Gen. in 3 Altersgruppen (100d, 130d und 220d) als statistisch signifikant. Der Vergleich zwischen EPM 1 und EPM 2 innerhalb einer Gruppe zeigte eine signifikante Reduktion der Häufigkeit des

Kopf-Streckens nach dem Forced Swimming bei den Kontrollen in allen Altersgruppen, bei den MK-801 II.Gen. nur in 4 Altersgruppen. Der Vergleich zwischen EPM 1 und EPM 2 bezüglich der Latenz bis zum Kopfstrecken machte deutlich, dass bei den MK-801 II.Gen. in 2 Altersgruppen (160d und 190d) im EPM 2 ein signifikant längerer Zeitraum bis zum erstmaligen Kopfstrecken bestand. Bei den Kontrolltieren war keine vergleichbare Signifikanz feststellbar. Im statistischen Vergleich zwischen den verschiedenen Altersgruppen mithilfe des Kruskal-Wallis-Tests zeigten sich nur bei den MK-801 II.Gen. an beiden Versuchstagen signifikante Unterschiede, während bei den Kontrolltieren ein relativ ähnliches Verhalten in den verschiedenen Altersgruppen vorkam.

### *3.3.11 Zusammenfassung*

In Bezug auf Gesamtstrecke, mittlere Geschwindigkeit und das Verharren im EPM zeigten beide Versuchsgruppen in sehr ähnlicher Form eine Reduktion ihrer Aktivität nach dem Forced Swimming. Ebenso ähnelten sich die beiden Gruppen in Dauer und Häufigkeit der Aufenthalte in geschlossenen und distalen geschlossenen Armen des EPM in den jüngeren drei Altersgruppen. Ungefähr ab dem Alter von 160 Tagen zeigten die Kontrolltiere dann eine veränderte Reaktion auf Stress (Forced Swimming), die bei den MK-801 II.Gen. nicht gegeben war. Diese offenbarte sich als deutliche Zunahme der Aufenthalte in den geschlossenen und distalen geschlossenen Armen des EPM. Im Zentrum hielten sich die MK-801 II.Gen. aller Altersgruppen nach dem Forced Swimming kürzer und seltener auf, während die Kontrolltiere der jüngeren drei Altersgruppen in EPM 1 und EPM 2 ein relativ ähnliches Verhalten zeigten, ab dem Alter von 160 Tagen aber eine deutlich veränderte Reaktion auf den Schwimmtest zeigten und signifikant Aufenthaltsdauer und –häufigkeit verringerten. Bezüglich ihrer Aufenthalte in den offenen und den distalen offenen Armen und das Aufrichten im EPM reagierten beide Versuchsgruppen auf ähnliche Weise mit einer Verringerung dieser Verhaltensweisen auf den Forced Swim Test. Die Häufigkeit des „Kopf Streckens“ über den Rand der offenen Arme reduzierten die Kontrolltiere aller Altersgruppen signifikant nach dem Forced Swimming. Die MK-801 II.Gen. taten das nur im Alter von 130d und 190d sehr viel weniger ausgeprägt und unterschieden sich damit auch signifikant von den 70d alten Exemplaren. Weiterhin streckten die MK-801 II.Gen. der drei älteren Gruppen den Kopf im EPM 2 deutlich früher erstmalig über den Rand als im EPM 1 und taten dies ebenso an beiden Versuchstagen früher als die 70d und die 100d alten MK-801 II.Gen.. Das Verhältnis der Gesamtaufenthaltszeiten von geschlossenen Armen (CA) gegenüber distalen geschlossenen Armen (CAD) änderte sich im EPM 2 durch den vorangegangenen Stress zugunsten der distalen geschlossenen Arme, die wegen ihrer 3 schützenden Seitenwände maximale Sicherheit versprechen. Im EPM 1 war das Verhältnis der Gesamtzeit in

proximalen geschlossenen Armen gegenüber distalen geschlossenen Armen durchschnittlich 1 : 2,2, im EPM 2 war das Verhältnis von Gesamtzeit in den proximalen geschlossenen Armen den gegenüber distalen geschlossenen Armen durchschnittlich 1 : 4.

### 3.4 Forced Swim Test

#### 3.4.1 Schwimmen

Die Durchschnittsdauer der jeweiligen Schwimmperioden lag in 4 Altersgruppen bei den MK-801 II.Gen. höher als bei den Kontrolltieren und war bei den 190 Tage alten und bei den 220 Tage alten Tieren auch statistisch signifikant (Abb. 24). Bei den Kontrolltieren kam nach dem Kruskal-Wallis-Test zu signifikanten altersabhängigen Unterschieden. Die 70d alten Kontrolltiere zeigten sehr lange Schwimmperioden, während diese bei allen älteren Gruppen kürzer waren, aber ihre Dauer mit zunehmendem Alter doch leicht anstieg. Bei den MK-801 II.Gen. kam es in fast allen Altersgruppen zu häufigeren Schwimmperioden als bei den

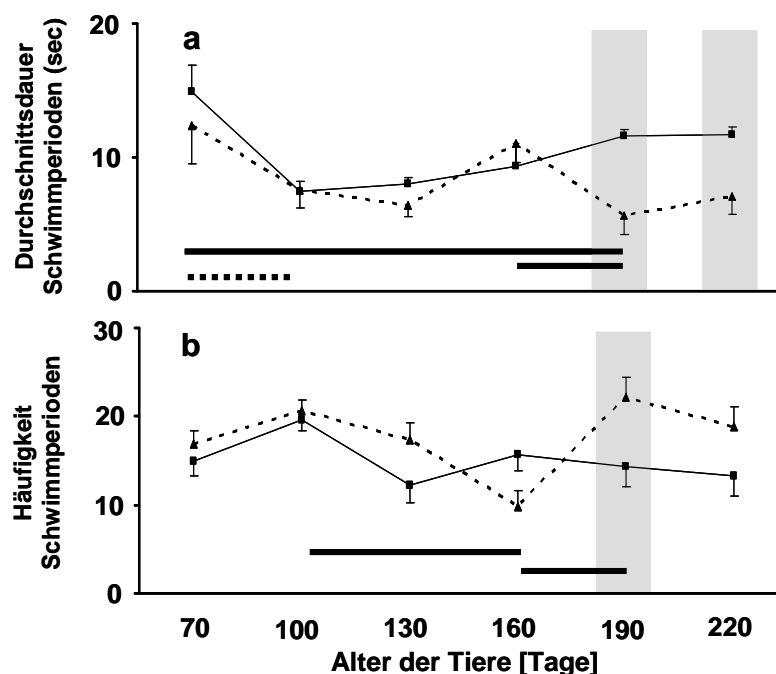


Abbildung 24: Durchschnittsdauer der Schwimmperioden im FST bei Nachkommen von CTRL- und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (a); Häufigkeit der Schwimmperioden im FST bei Nachkommen von CTRL- und Nachkommen von MK-801 behandelten Muttertieren (b).

■ Ctrl ▲ MK-801

Signifikanz zwischen Ctrl und MK-801 II.Gen. im FST ( Wilcoxon-Mann-Whitney-Test,  $p < 0,02$ ;  $n = 9$ )

— Signifikanz zwischen 2 Altersstufen der Ctrl im FST ( Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,005$ ;  $n = 9$ )

.... Signifikanz zwischen 2 Altersstufen der MK-801 II.Gen. im FST ( Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,05$ ;  $n = 9$ )

Kontrolltieren. Signifikant bestätigten dies die 190 Tage alten Kontrolltiere mit 22-mal im Gegensatz zu den gleichaltrigen MK-801 II.Gen. mit durchschnittlich 14-mal. Beim Vergleich der Häufigkeit der Schwimmperioden zwischen den Altersgruppen kam es bei den Kontrolltieren nach dem Kruskal-Wallis-Test zu deutlich signifikanten Altersschwankungen,

während dieser bei den MK-801 II.Gen. mit entsprechendem p-Wert von 0,06 eher unauffällig war.

### *3.4.2 Zusammenfassung*

Zusammengefasst gab es beim FST wenige und sehr vereinzelte Unterschiede, welche keine klaren Interpretationen bzgl. der Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen oder der Altersunterschiede innerhalb der Behandlungsgruppen zulassen. Zusätzlich wurde das Tauchverhalten und das „Treiben lassen“ in Bezug auf Häufigkeit und Dauer untersucht, führte aber zu keinerlei signifikanten Beobachtungen.

## 4 Diskussion

### 4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Im Open Field 2 (OF 2) ließ sich als Reaktion auf das Forced Swimming bei Kontrolltieren und MK-801 II.Gen. eine geringere Gesamtstrecke und Geschwindigkeit als im Open Field 1 (OF 1) feststellen und die Aufenthalte im Zentrum wurden deutlich kürzer und seltener, während Aufenthaltszeit und –häufigkeit in Rand- und Eckbereichen zunahmen. Ab dem Alter von 160d war die Zunahme der Aufenthaltszeiten im Rand – und Eckbereich im OF 2 bei den Kontrolltieren deutlich stärker ausgeprägt als bei den gleichaltrigen MK-801 II.Gen.. Die Häufigkeit des Aufrichtens im OF wurde von den Kontrolltieren in allen Altersgruppen nach dem Forced Swimming signifikant reduziert, während die MK-801 II.Gen. mittleren Alters dieses Verhalten nicht signifikant veränderten. Im Elevated Plus Maze 2 (EPM 2) zeigten beide Versuchsgruppen in den jüngeren drei Altersgruppen in sehr ähnlicher Form eine Reduktion ihrer Aktivität nach dem Forced Swimming in Bezug auf Gesamtstrecke, mittlere Geschwindigkeit und das Verharren. Ebenso ähnelten sie sich in Zunahme von Dauer und Häufigkeit der Aufenthalte in geschlossenen und distalen geschlossenen Armen des EPM. Ungefähr ab dem Alter von 160 Tagen offenbarte sich bei den Kontrolltieren eine deutliche Zunahme der Aufenthalte in den geschlossenen Armen und noch deutlicher in den distalen geschlossenen Armen des EPM 2, sowie eine entsprechende Verringerung von Aufenthaltsdauer und –häufigkeit im Zentrum. Bei den MK-801 II.Gen. waren diese Reaktionen vergleichsweise geringfügig ausgeprägt. Die Häufigkeit des „Kopf Streckens“ über den Rand der offenen Arme („head dipping“) zeigte sich bei den Kontrolltieren nach dem Forced Swimming deutlicher verringert als bei den MK-801 II.Gen., die Latenz bis zum jeweils erstmaligem „Kopf Strecken“ erhöht. Das Verhältnis der Gesamtaufenthaltszeiten von geschlossenen Armen (CA) gegenüber distalen geschlossenen Armen (CAD) änderte sich im EPM 2 durch den vorangegangenen Stress zugunsten der distalen geschlossenen Arme, die wegen ihrer 3 schützenden Seitenwände maximale Sicherheit versprechen. Im EPM 1 war das Verhältnis von Gesamtzeit in proximalen geschlossenen Armen gegenüber distalen geschlossenen Armen durchschnittlich 1 : 2,2, im EPM 2 war das Verhältnis der Gesamtzeit in den proximalen geschlossenen Armen gegenüber den distalen geschlossenen Armen durchschnittlich 1 : 4. Im FST gab es nur wenige und sehr vereinzelte Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen.

Insgesamt waren die Verhaltensreaktionen in der Elevated Plus Maze und im Open Field auf den Stressor Forced Swimming in den drei jüngeren Altersgruppen in beiden Konditionen sehr ähnlich. Zwischen den Altersstufen 130d und 160d kam es zu einem abrupten Ende

dieser parallelen Verhaltensentwicklung und die „normale“ Altersentwicklung im Stressverhalten der CTRL-Tiere war in den MK-801 II.Gen. Tieren nur noch rudimentär oder gar nicht mehr vorhanden.

## **4.2 Der NMDA-Rezeptor**

Das Krankheitsbild der Schizophrenie ist nach heutigen Kenntnissen durch eine Reihe von Symptomen geprägt, welche sich in drei Gruppen einteilen lassen. Die Gruppe der Positivsymptomatik umfasst Symptome wie Halluzinationen, Verwirrung, Wahnvorstellungen oder psychomotorische Erregung. Die Gruppe der Negativsymptomatik umfasst Symptome wie Anhedonie, Antriebsmangel, Sprachverarmung oder soziale Isolation. In den letzten Jahren erweckte eine dritte Gruppe das Interesse der Forschung und Klinik, die Gruppe der kognitiven Einschränkungen wie Aufmerksamkeitsdefizit oder gestörte Gedächtnisentwicklung. Obgleich die neuropathologischen Mechanismen der Schizophrenie noch nicht vollständig analysiert werden konnten, wird allgemein davon ausgegangen, dass neben der Hyperaktivität des dopaminergen Systems eine Fehlfunktion der Signalgebung durch den N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) Rezeptor eine Schlüsselrolle bei der Erkrankung spielt (Humphries, Mortimer et al. 1996; Grimwood, Slater et al. 1999; Olney, Newcomer et al. 1999; Tsai and Coyle 2002; Harrison and Weinberger 2005). Nach vorübergehender Behandlung von Neugeborenen Ratten mit dem nicht-kompetitiven NMDA-Antagonist MK-801 (Dizozilpin) konnte mit Western-Blot-Analyse eine dauerhaft gesteigerte kortikale Expression der NMDA-Rezeptor-Untereinheit NMDA-R1 nachgewiesen werden (Abb. 25). Hier stand die pathologische Veränderung im NMDAR-System in direktem Zusammenhang mit ante mortem diagnostizierten Einschränkungen der kognitiven Leistungen. Vergleichbare Erkenntnisse gibt es beim Menschen aus post mortem Studien von Schizophrenie-Patienten, in denen eine tendenzielle Erhöhung der NMDA- Rezeptoruntereinheit NR1 im superiorem temporalem Kortex festgestellt werden konnte (Nudmamud-Thanoi and Reynolds 2004). Andere Experimente wiesen im anterioren cingulären Cortex eine gesteigerte Expression der NMDA-Rezeptoruntereinheit NR1C2' nach (Kristiansen, Beneyto et al. 2006). Auf hirnmorphologischer Ebene führte die Behandlung mit MK-801 zu neuronaler Degeneration im Hippocampus, die sich mikroskopisch nicht von programmiertem Zelltod unterscheiden ließ (Gorter, Titulaer et al. 1991; Gorter, Veerman et al. 1992; Gorter and Brady 1994). Diese Beobachtungen unterstützen die Hypothese einer Fehlfunktion des Hippocampus als wichtige Ursache für die Entstehung einer Schizophrenen Erkrankung (Johnson 2005). Durch Ischämie hervorgerufene neuronale Schäden werden auf eine übersteigerte Aktivität der NMDA-Rezeptoren, und damit den übermäßigen Einstrom von Calcium-Ionen in die Zellen, zurückgeführt (Gardoni and Di Luca 2006). Dieser, durch NMDA Rezeptor-Aktivierung hervorgerufene Calciumeinstrom führt zum Zelltod (Lynch and Guttman 2002).



Bestätigt wird diese Annahme durch die Feststellung, dass nicht-kompetitive NMDA-Antagonisten Schizophrenie-ähnliche Symptome und kognitive Defizite bei Menschen ebenso wie bei Ratten auslösten (Svenningsson, Tzavara et al. 2003; Coyle and Tsai 2004; Stefani and Moghaddam 2005; Rujescu, Bender et al. 2006). Diese Defizite bezogen sich bei perinatal mit MK-801 behandelten Ratten auf das Arbeitsgedächtnis und das räumliche Gedächtnis (Kesslak, Chuang et al. 2003; Latysheva and Rayevsky 2003; Stefani and Moghaddam 2005), Hypermotilität / Hyperaktivität, Ataxie, Stereotypie (Pitsikas, Zisopoulou et al. 2008) und die Beeinträchtigung sozialer Interaktionen (Matsuoka, Tsunoda et al. 2008).

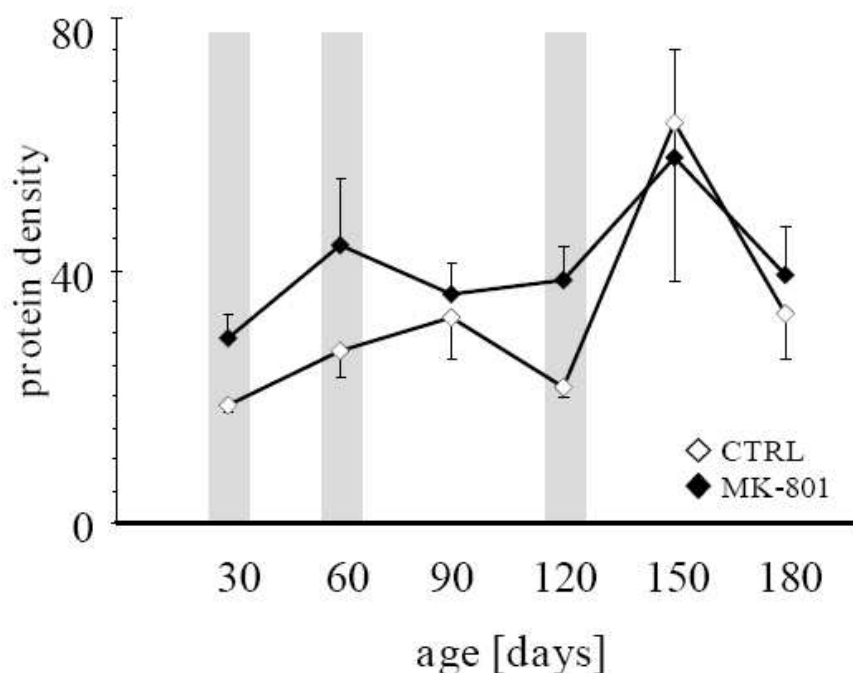


Abb. 25: NMDA-R1-Protein im ZNS: Die Expression der NMDA-Rezeptor-Untereinheit NR1 im Kortex von Ratten verschiedener Altersgruppen bei Tieren, die mit dem NMDA-Antagonist MK- 801 (◆) oder Saline als Placebo (◇) behandelt wurden. Die vorübergehende, perinatale Behandlung mit MK-801 induzierte einen langfristigen Anstieg des kortikalen NMDA-R1-Rezeptorproteins. (Mit freundlicher Genehmigung von Dr. Schiffelholz, frei nach Nature Vol.361:31-39 Ciba found symp164:176-196)

Der NMDA-Rezeptor ist die zentrale Schaltstelle für die exzitatorische Glutamat-Freisetzung im gesamten ZNS und hat daher besonderen Einfluss auf die normale Hirnfunktion (Gardoni and Di Luca 2006). Eine Reihe von ZNS-Erkrankungen werden mit einer Fehlfunktion des NMDA-Rezeptors in Verbindung gebracht.

**Ischämie:** Neuronale Störungen, die durch Ischämie verursacht wurden, werden auf eine exzessive Aktivierung der Glutamat-Rezeptoren zurückgeführt (Gardoni and Di Luca 2006). Bestätigt wurde diese Annahme durch stark erhöhtes, extrazelluläres Glutamat im akut

ischämischen Gehirn mit stetigem anschließendem Absinken und massive, intrazelluläre Calcium-Level, die den Zelltod verursachten (Villmann and Becker 2007).

**Epilepsie:** Chronische Veränderungen der NMDA-Rezeptoren werden auch bei menschlicher Epilepsie vermutet, weil sie als hauptexzitatorisches System und der damit einhergehenden Informationsverarbeitung in unmittelbarem Kontext mit den Anfällen stehen. Die Annahme, dass eine gesteigerte Expression der NMDA-Rezeptor-Untereinheit NR2 in dem betroffenen Hirnareal besteht, nicht aber in den umliegenden Arealen, scheint durch entsprechende Immunoreaktivitäten bestätigt (Gardoni and Di Luca 2006).

**Chorea Huntington:** Es wurde berichtet, dass sich bei Chorea Huntington das geschädigte Huntingtin-Gen an das Protein PSD-95 bindet und dieser Komplex eine Hemmung des NMDA-Rezeptors verursacht (Gardoni and Di Luca 2006).

**Morbus Parkinson:** Die Degeneration der Nigrostriatalen Bahnen bei Morbus Parkinson (Sherer, Betarbet et al. 2001) hängt unmittelbar mit der Funktion der Glutamat-Rezeptoren (NMDA-Rezeptoren) im Striatum zusammen, durch deren Manipulation Dyskinesien behandelt werden können (Hallett, Dunah et al. 2005). Bei den durch L-Dopa verursachten Dyskinesien wurde eine Umverteilung der NR2B-Untereinheit der NMDA-Rezeptoren beobachtet (Gardoni and Di Luca 2006). Der schwache NMDA-Rezeptor-Antagonist Amantadin wird seit Jahren zur Behandlung von Parkinson verabreicht und gilt als lindernd bei L-Dopa-induzierten Dyskinesien.

**Morbus Alzheimer:** Die bei Morbus Alzheimer zugrunde liegenden, falsch gefalteten Amyloid-beta Peptide vermindern synaptische Plastizität und glutamaterge Übertragung (Kamenetz, Tomita et al. 2003) und mit zunehmender Ausprägung der Krankheit wurden Protein-Level und mRNA-Expression der NMDA-Rezeptor-Untereinheiten NR1/2B signifikant reduziert vorgefunden (Mishizen-Eberz, Rissman et al. 2004). Memantin, ein mäßig bindender, nicht-kompetitiver Antagonist des NMDA-Rezeptors, wurde bereits zur Behandlung sehr schwerwiegender Krankheitsfälle freigegeben (Scarpini, Scheltens et al. 2003).

**Alkoholismus:** NMDA-Rezeptoren haben die mitunter höchste Affinität zu Ethanol im ZNS und werden dadurch blockiert (Grant and Lovinger 1995; Vengeliene, Bachteler et al. 2005). Beim Alkoholismus wird von Veränderungen an den NMDA-Rezeptoren durch den übermäßigen Alkoholkonsum (Petrakis, Limoncelli et al. 2004) ausgegangen, die wesentlich zur Entwicklung der Abhängigkeit beitragen (Vengeliene, Bachteler et al. 2005). Bei den Nachkommen von Mäusen, denen während der Schwangerschaft Ethanol appliziert wurde, konnten neben kognitiven Defiziten (fetal alcohol syndrome) Veränderungen der NMDA-Rezeptoren nachgewiesen werden (Toso, Poggi et al. 2005).

### **4.3 Interpretation der Ergebnisse**

Das Open Field ist ein gängiger Test zur Untersuchung von Erkundungsverhalten und Angst vor freien, ungeschützten Flächen (Whimbey and Denenberg 1967; Asano 1986). Die bei allen Tieren im Open Field 2 (OF 2) als Reaktion auf den Schwimmstress festgestellte geringere Gesamtstrecke und Geschwindigkeit kann als gesteigerte Vorsicht oder geringeres Erkundungsinteresse gedeutet werden (Benetti, Andrade de Araujo et al. 2007). Der subjektive Eindruck gesteigerter Ängstlichkeit kann zwar nicht durch Literaturangaben bestätigt werden, aber Tiere unter anxiolytischer Medikation zeigten signifikant erhöhte zurückgelegte Gesamtstrecken und Geschwindigkeiten im OF (Dere, Topić et al. 2002). Es wird daher angenommen, dass Angst die Ursache für die reduzierte Aktivität ist. Sehr viel ausgeprägter zeigte sich die Reaktion auf den Stress beim Aufenthalt in den verschiedenen Bereichen der OF. Die Tiere hielten sich im OF 2 deutlich kürzer und seltener im Zentrum auf als im OF 1, während die Aufenthaltszeit und –häufigkeit in den Rand- und Eckbereichen zunahm. Da die Rand- und Eckbereiche durch die Seitenwände Schutz versprechen, kann dieses Verhalten als erhöhte Angst interpretiert werden (Rodgers and Dalvi 1997; Treit and Menard 1997; Schiffelholz, Hinze-Selch et al. 2004). Die abnehmende Häufigkeit des Aufrichtens im OF 2 gegenüber dem OF 1 verlief ungefähr proportional zur Reduktion von Gesamtstrecke und Geschwindigkeit und kann dementsprechend auf geringeres Erkundungsinteresse als Folge von gesteigerter Angst zurückgeführt werden. Das Elevated Plus Maze (EPM) gilt als klassischer Test für Angst und Erkundung (Carobrez and Bertoglio 2005) und zur Validierung der Reaktion auf Stress (Adamec, Burton et al. 1999). Es ist in drei Bereiche aufgeteilt, die geschlossenen Arme (sicher), das Zentrum (neutral) und die offenen Arme (gefährlich) (Abb. 3). Im Elevated Plus Maze 2 (EPM 2) zeigten beide Versuchsgruppen in den drei jüngeren Altersgruppen in sehr ähnlicher Form eine Reduktion ihrer Aktivität nach dem Forced Swimming in Bezug auf Gesamtstrecke, mittlere Geschwindigkeit und das gesteigerte Verharren. Diese Herabsetzung der Aktivität kann auf zunehmende Angst (Dawson, Crawford et al. 1995), aber auch auf geringeres Erkundungsinteresse zurückzuführen sein (Carobrez and Bertoglio 2005). Wie bereits im OF 2 kann hier der subjektive Eindruck gesteigerter Ängstlichkeit nicht durch Daten bestätigt werden. Verschiedene Arbeitsgruppen sehen aber einen direkten Zusammenhang zwischen Angst und daraus resultierendem, geringerem Erkundungsinteresse (Rodgers and Cole 1993; Rodgers and Dalvi 1997). Die signifikant gesteigerten Aufenthaltszeiten in den geschlossenen Armen nach dem Forced Swimming sprechen für eine gesteigerte Ängstlichkeit, da „schützende“ Seitenwände den Eindruck von Sicherheit vermitteln (Rodgers and Dalvi 1997; Treit and Menard 1997). Die Einteilung der geschlossenen Arme in einen proximalen und einen distalen Teil ermöglichte eine genauere Analyse des Angstverhaltens

in der EPM (Abb. 4). Durch die drei den distalen Teil umgebenden Wände wird dem Tier in diesem Bereich ein Maximum an Sicherheit vermittelt. Ungefähr ab dem Alter von 160 Tagen offenbarte sich bei den Kontrolltieren eine deutliche Zunahme der Aufenthalte in den geschlossenen Armen und noch deutlicher in den distalen Bereichen der geschlossenen Arme des EPM 2 sowie eine entsprechende Verringerung von Aufenthaltsdauer und –häufigkeit im Zentrum. Bei den MK-801 II.Gen. waren diese Reaktionen vergleichsweise gering ausgeprägt. Im Gegensatz zu den MK-801 II.Gen. Tieren führte der Schwimmstress bei den CTRL Tieren folglich zu einer massiven Steigerung der Ängstlichkeit. Die Häufigkeit des „Kopf Streckens“ über den Rand der offenen Arme („head dipping“) ist ein weiterer Parameter zur Erkennung von Angst (Lopes, da Cunha et al. 2007) und zeigte sich bei den Kontrolltieren nach dem Forced Swimming deutlicher verringert als bei den MK-801 II.Gen.. Die wenigen und sehr vereinzelt Unterschiede im FST lassen keine klaren Interpretationen bzgl. der Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen oder der Altersunterschiede innerhalb der Behandlungsgruppen zu. Insgesamt fällt als Fazit aller Versuche auf, dass sich die MK-801 II.Gen. im direkten Vergleich bzgl. der Grundängstlichkeit nur geringfügig von den Kontrolltieren unterscheiden. Sehr viel auffälliger ist die Betrachtung der Angstreaktion nach Stress in Bezug auf das Alter. Bei den Kontrolltieren zeigte sich in vielen Verhaltensweisen eine beeindruckende Veränderung ab dem Alter von 160 Tagen, die derartig bei den MK-801 II.Gen. nicht auftrat. Dieser Unterschied zwischen den beiden Versuchsgruppen gibt deswegen erneut Anlass zu der Vermutung, dass bei den MK-801 II.Gen. eine gestörte Altersentwicklung im Verhalten vorliegt (Schiffelholz, Hinze-Selch et al. 2004).

#### ***4.4 Vergleich bisheriger Ergebnisse mit denen aus Akutversuchen***

Über die erste Generation MK-801-behandelter Ratten liegen verschiedene Ergebnisse aus Open Field und Elevated Plus Maze vor, die mit denen aus der vorliegenden Arbeit verglichen werden sollen. 24 Stunden nach akuter Gabe von MK-801 zeigten Ratten / Mäuse eine gesteigerte Aktivität, eine schlechtere Eingewöhnung und eine deutlich reduzierte Erinnerung im Falle einer Wiederholung des OF (Dai and Carey 1994; Carey, Dai et al. 1998). Tiere, die vom 1. Lebenstag (PD 1) bis PD 22 mit MK-801 und zusätzlich mit einem kompetitivem NMDA-Antagonisten (CGP 39551) behandelt wurden, zeigten ebenfalls signifikant gesteigerte Aktivität im OF gegenüber Kontrolltieren mit einem Maximum im Alter von 28 Tagen und anschließendem Rückgang (Facchinetti, Ciani et al. 1993). In einer anderen Studie konnte gezeigt werden, dass die perinatale subchronische Behandlung von MK-801 zu einer gesteigerten Aktivität im OF bei jungen Tieren (30d und 60d alt) führte (Schiffelholz, Hinze-Selch et al. 2004). Im Alter von 60 Tagen erreichen Ratten die Geschlechtsreife (Dohler and Wuttke 1975) und das Verhalten erfährt entscheidende

Umbrüche (Laviola, Macri et al. 2003). So zeigten perinatal mit MK-801 behandelte Ratten während der Pubertät eine Hyperaktivität in Form einer größeren zurückgelegten Gesamtstrecke und einer höheren Durchschnittsgeschwindigkeit, die sich nach der Pubertät im Alter von 90d sprunghaft reduzierte und jetzt geringer war als bei den Kontrolltieren (Schiffelholz, Hinze-Selch et al. 2004). Ebenso kam es in jenen Versuchen nach der Pubertät zu einer Abnahme des Aufrichtens und der Aufenthaltsdauer im Zentrum des OF, sowie zu einer Zunahme der Aufenthaltsdauer in den Ecken und des Putzverhaltens. Bei der in der vorliegenden Arbeit untersuchten zweiten Generation von MK-801 behandelten Muttertieren waren die Unterschiede im OF zu den unbehandelten Tieren sehr ähnlich, aber vor der Stressinduktion nicht signifikant. Signifikante Unterschiede gab es nach dem Forced Swimming zwischen den beiden Gruppen hinsichtlich der Altersentwicklung. Ab dem Alter von 160d war die Reduktion der Aufenthaltszeiten im Rand- und Eckbereich im OF 2 bei den Kontrolltieren deutlich stärker ausgeprägt als bei den gleichaltrigen MK-801 II.Gen.. Die Häufigkeit des Aufrichtens im OF wurde von den Kontrolltieren in allen Altersgruppen nach dem Forced Swimming signifikant reduziert, während die MK-801 II.Gen. mittleren Alters dieses Verhalten nicht signifikant veränderten. Vergleichbare Studien über Effekte in der ersten Generation sind bis dato nicht beschrieben. Im Elevated Plus Maze (EPM) wurde bei den mit MK-801 behandelten Tieren in allen Altersgruppen eine Reduktion der Aktivität im Vergleich zu den Kontrolltieren beobachtet (Baier, Blume et al. 2009). Dementsprechend waren Dauer und Häufigkeit des Verharrens bei den behandelten Tieren gesteigert. Die Analyse der Aufenthalte in den jeweiligen Bereichen des EPM ergab in der ersten Generation MK-801-behandelter Ratten, verglichen mit Kontrolltieren, eine geringere Gesamtzeit in den geschlossenen Armen vor der Pubertät und längere Aufenthalte in diesen Bereichen im Alter von 90 Tagen. In der hier untersuchten zweiten Generation konnten diese Beobachtungen nur andeutungsweise, aber nicht signifikant, nachgewiesen werden. Die Kontrolltiere zeigten in den Versuchen mit der ersten Generation ab dem Alter von 120 Tagen einen deutlichen Rückgang von Geschwindigkeit und Gesamtstrecke, der bei den MK-801-behandelten Tieren nicht auftrat. Bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuchen im EPM kam es zu einem ähnlichen Verhaltensumbruch wie in den oben genannten Experimenten ab dem Alter von 160 Tagen, der bei gleichaltrigen, von behandelten Muttertieren abstammenden Tieren nicht auftrat. Sowohl im EPM als auch im OF führte die perinatale Gabe von MK-801 zu einer Reduktion bzw. Verhinderung altersbedingter Veränderungen im Angstverhalten der behandelten Tiere. Überraschend und neu ist die Tatsache, dass sich die Einflüsse auf die altersbedingte Entwicklung des Angstverhaltens auch auf die zweite, nicht behandelte Folgegeneration der behandelten Muttertiere übertrugen. Dies gilt auch für die Entwicklung des Körpergewichts, das ab dem Alter von 60 Tagen bei der ersten Generation behandelter Tiere signifikant niedriger war

(Schiffelholz, Hinze-Selch et al. 2004). In einer anderen Versuchsreihe war das Körpergewicht bei mit MK-801 behandelten Tieren war im Alter von 70d um 15% reduziert (Gorter, Titulaer et al. 1991), bei Tieren, die von PD1 bis PD22 MK-801 und zusätzlich den kompetitiven NMDA-Antagonisten (CGP 39551) bekamen, um 25% – 32% reduziert (Facchinetti, Ciani et al. 1993). In den Versuchen der vorliegenden Arbeit bestätigten sich diese Beobachtungen, obwohl die betroffenen Tiere selbst nicht, sondern nur ihre Muttertiere mit MK-801 behandelt worden waren. Die 70d alten MK-801 II.Gen. wogen 12% weniger als die gleichaltrigen Kontrolltiere, die 100d und die 130d alten MK-801 II.Gen. wogen 14% weniger.

Zusammengefasst lassen die verhaltensbiologischen und physiologischen Untersuchungen vermuten, dass sich die festgestellten Effekte auf die altersbedingte Entwicklung des Angstverhaltens durch die Behandlung mit MK-801 bei akut behandelten Tieren über die Muttertiere auf die zweite, nicht behandelte Generation übertragen. Auf die möglichen Hintergründe bzw. Ursachen wird noch einzugehen sein.

#### **4.5 Einfluss von Stress versus Habituation**

Mit der Reihenfolge der Versuche sollte der Einfluss des Forced Swimming als massiver Stressfaktor auf das Verhalten der Tiere untersucht werden. Der Forced Swim Test (FST) gilt als klassischer Test zur Untersuchung depressiven Verhaltens (Pedreanez, Arcaya et al. 2006), kann aber auch als Stressfaktor sehr gut eingesetzt werden (Lino-de-Oliveira, De Lima et al. 2002; Finn, Marti et al. 2003). Kritisch zu beachten ist bei der angewandten Versuchsreihe die Tatsache, dass eine Wiederholung von Verhaltenstests wie OF oder EPM bereits zu einem veränderten Verhalten der Tiere führen kann. Zurückgeführt wird das auf Gewöhnungseffekte (Hlinak, Gandalovicova et al. 2005) und ein daraus resultierendes, reduziertes Erkundungsinteresse (Thiel, Huston et al. 1998). Bei den Beobachtungen in OF 2 und EPM 2 kam es also darauf an, die Einflüsse auf das Verhalten, hervorgerufen durch den FST, von den Wiederholungseffekten zu unterscheiden. Letztere äußern sich in erster Linie in einer geringeren zurückgelegten Distanz (Dawson, Crawford et al. 1994), einer geringeren Geschwindigkeit (Lau, Ngan et al. 2005) und häufigerem Verharren. Stress dagegen sorgt für ein gesteigertes Angstverhalten (Sevgi, Ozek et al. 2006), welches zur Vermeidung von Risiken (Risk Assessment) führt (Rodgers and Dalvi 1997; Lopes, da Cunha et al. 2007). Daher kann Stress, und damit Angst, also ebenso zu einem scheinbar geringeren Erkundungsinteresse führen, indem die Tiere aufgrund der Risikovermeidung geringere Strecke und Geschwindigkeit, sowie häufigeres und längeres Verharren, offenbaren. Umgekehrt wird darüber berichtet, dass eine anxiolytische Medikation signifikante Steigerung von Gesamtstrecke und Geschwindigkeit bewirkte (Dere, Topic et al. 2002). Im Open Field wurden als unmittelbare Folge von Stress verminderte Aufenthalte in ungeschützten

Bereichen (Zentrum des OF) und das Bevorzugen von schützenden Ecken und Randbereichen berichtet (Schoemaker and Smits 1994; Rex, Voigt et al. 1998). Diese Angaben bestätigten sich im Rahmen unserer Versuchsreihe signifikant (Abb. 9-11). Gesamtstrecke und Durchschnittsgeschwindigkeit waren in unseren Versuchen im OF 2 in den meisten Altersgruppen signifikant reduziert. Der subjektive Eindruck, dass Stress, bzw. Angst die Hauptursache für diese Reduktion war, kann statistisch nicht bestätigt werden. Als Erklärung ist dieser Eindruck aber nahe liegender, weil ein Wiederholungseffekt allein vermutlich nicht zu einer solchen Ausprägung der Reduktion geführt hätte und das Erkundungsinteresse durch Stress allein signifikant vermindert werden kann. Das Aufrichten ist in der Literatur keiner Grundstimmung explizit zugeordnet, sollte aber ähnlich wie Gesamtstrecke und Durchschnittsgeschwindigkeit beurteilt werden, da es im OF 2 proportional zu beiden Parametern abnahm. Das Putzverhalten wurde dagegen in fast allen Altersgruppen im OF 2 signifikant gesteigert und gilt in der Literatur als Hinweis für vermehrte Angst (Orito, Gotanda et al. 2007). Somit kann der Stress im OF 2 als größter Faktor für die Verhaltensveränderungen gesehen werden, weil sich alle veränderten Parameter darauf zurückführen lassen. Im EPM wurde, ähnlich wie im OF, ein signifikant häufigeres Aufsuchen der schützenden Bereiche (geschlossene Arme) bei Angst zur Vermeidung von Risiken festgestellt (Rodgers and Cole 1993), während eine Wiederholung des EPM ohne zusätzlichen Stress in anderen Arbeitsgruppen lediglich zu eingeschränktem Erkundungsverhalten und sehr reduzierten Aufenthalten in den offenen Armen führte (Dawson, Crawford et al. 1994; Carobrez and Bertoglio 2005). In den Versuchen dieser Arbeit wurden die Aufenthalte in den geschlossenen und den distalen geschlossenen Armen von fast allen Tieren im EPM 2 signifikant verlängert (Abb. 17 u. 18) und das Verhältnis der Gesamtaufenthaltszeiten von geschlossenen Armen (CA) gegenüber distalen geschlossenen Armen (CAD) änderte sich im EPM 2 durch den vorangegangenen Stress zugunsten der distalen geschlossenen Arme, die wegen ihrer 3 schützenden Seitenwände maximale Sicherheit versprechen. Im EPM 1 war das Verhältnis der Gesamtzeit in den proximalen geschlossenen Armen gegenüber den distalen geschlossenen Armen durchschnittlich 1 : 2,2, im EPM 2 war das Verhältnis von Gesamtzeit in proximalen geschlossenen Armen gegenüber distalen geschlossenen Armen durchschnittlich 1 : 4. Da die Aufenthalte in den offenen Armen dieser Versuche kaum verändert waren, kann der Stress folglich die Ursache für die Aufhebung dieser erwartungsgemäßen Reduktion gewesen sein. Ähnliche Berichte einer Aufhebung der Gewöhnungseffekte durch Stress finden sich auch in der Literatur (Shao, Pan et al. 2007). Das Kopf – Strecken über den Rand der offenen Arme dient an sich der Erkundung. In der Literatur gilt es trotzdem vor Allem als ein wichtiger Indikator für Angst-bezogenes Verhalten (Lopes, da Cunha et al. 2007) und erfuhr dem vorausgegangenen Stress entsprechend eine Verringerung im EPM 2. Zusammengefasst

erfahren die Veraltensparameter in EPM2 wie schon in OF2 Veränderungen, welche sich in Anlehnung an die Literatur auf den induzierten Stress bzw. die Angst zurückführen lassen und nicht als klassische Wiederholungseffekte zu interpretieren sind.

#### **4.6 Altersentwicklung in Bezug auf Stress**

Da Ratten die Geschlechtsreife ungefähr mit einem Alter von 60 Tagen erreichen (Dohler and Wuttke 1975), waren die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Tiere aller Altersgruppen definitionsgemäß erwachsen. Umso interessanter erscheint die Tatsache, dass bei den erwachsenen Tieren im Alter von 70 bis 220 Tagen hinsichtlich vieler Parameter im OF und EPM bereits erste Veränderungen mit zunehmendem Alter erkennbar waren. Im Verhalten zeigte sich diese Entwicklung besonders in der Stressreaktion, die bei den Tieren zu einer nachlassenden Aktivität mit steigendem Alter führte, und sehr gut die Studien anderer Arbeitsgruppen bestätigt (Laviola, Adriani et al. 1999; Benetti, Andrade de Araujo et al. 2007). Ebenso reagierten die älteren Tiere mit einem zunehmenden Angstverhalten und Risikovermeidung (Risk Assessment) auf den Stress (Bessa, Oliveira et al. 2005). Die zitierten Studien beschreiben größtenteils Unterschiede zwischen 4 und 15 Monaten alten Ratten. Bis dato gab es keine Untersuchungen einer veränderten Reaktion auf Stress in den ersten postpubertären Monaten. Bei einem Altersunterschied von 9 Monaten zwischen den Versuchsgruppen ist schwer nachzuvollziehen, in welchem Alter die ersten Verhaltensveränderungen eingetreten sind, und ob sie sich sprunghaft oder schleichend entwickelt haben. In der vorliegenden Arbeit wurden die Tiere zwar nicht bis zum Alter von 15 Monaten untersucht. Aber ein Zeitraster von 30 d zwischen den Untersuchungen erlaubt eine wesentlich genauere Analyse zum altersabhängigen Verlauf der Verhaltensveränderungen. Unsere Untersuchungen an Kontrolltieren im Alter von 70 bis 220 Tagen oder 2 bis 7 Monate bestätigten die nachlassende Aktivität und ein gesteigertes Angstverhalten mit zunehmendem Alter, wie es bereits in der Literatur beschrieben wurde. Zusätzlich ließ sich wiederholt bei verschiedenen Parametern eine stufenförmige Veränderung zwischen den Altersstufen 130d und 160d bzw. 4 und 5 Monaten erkennen. Diese zeigte sich signifikant in Form einer Reduktion der zurückgelegten Gesamtstrecke und der Geschwindigkeit in OF 2 und EPM 2, sowie einer Zunahme von Aufenthaltsdauer und -häufigkeit in den Randbereichen des OF 2 und geschlossenen und distalen geschlossenen Armen des EPM 2 und einer Abnahme von Häufigkeit und Dauer der Aufenthalte im Zentrum des EPM 2. All diese Veränderungen sprechen für einen klaren altersabhängigen Entwicklungsschritt im Verhalten der Ratten im Alter zwischen 5 und 6 Monaten. Bei den MK-801 II.Gen. ist eine vergleichbare altersabhängige Verhaltensentwicklung nicht einmal ansatzweise feststellbar. Dies spricht für eine gestörte Altersentwicklung der Nachkommen behandelter Tiere im Angst- und Stressverhalten, wie sie in ähnlicher Weise bereits in der



ersten Generation bei den mit MK-801 behandelten Tieren beobachtet wurde (Baier, Blume et al. 2009). Damit kann die vorliegende Arbeit zum ersten Mal zeigen, dass die nachhaltige Störung des NMDA-R Systems nicht nur in der ersten, direkt durch die Behandlung betroffenen Generation zu ausgeprägten Verhaltensveränderungen führt (Schiffelholz, Hinze-Selch et al. 2004). Vielmehr wird ein Teil der „induzierten Symptomatik“ offensichtlich auch über die Muttertiere an die zweite Generation weitergegeben, die keine akute Behandlung erfahren hat. Auf die möglichen Hintergründe wird im weiteren Verlauf der Arbeit eingegangen.

#### ***4.7 Zusammenhänge der Ergebnisse mit Nachkommen affektiv erkrankter Menschen***

Die Versuche mit der Folgegeneration von MK-801 behandelten Tieren waren deswegen aufschlussreich, weil die Nachkommen von Alkoholikern und Schizophrenen Patienten häufig sehr gut vergleichbare Verhaltensauffälligkeiten zeigen. So wurden bei Kindern von schizophrenen Müttern deutliche neuromotorische Abweichungen (McNeil, Harty et al. 1993) und gesteigerte Anzeichen für angstbedingtes Verhalten festgestellt (Naslund, Persson-Blennow et al. 1984). In einer brasilianischen Bevölkerungsstudie über insgesamt 431 Nachkommen (>18 Jahre alt) schizophrener Mütter ergab sich ein mit 67% signifikant geringeres Durchschnittseinkommen als bei der generellen Bevölkerung mit 76% und der Anteil unverheirateter Männer war signifikant höher (Terzian, Andreoli et al. 2007). Eine andere Studie, in der 15 Nachkommen schizophrener Mütter von der Geburt bis zum Jugendlichenalter untersucht wurden, bestätigte ein gesteigertes Risiko für kognitive Störungen und Aufmerksamkeitsdefizite. Weiterhin zeigten die betroffenen Kinder eine schlechtere soziale Anpassung, bzw. soziale Abkapselung und gehäuft auftretende Symptome innerhalb des Spektrums der Schizophrenie (Hans, Auerbach et al. 2005). Offensichtlich sind Nachkommen affektiv erkrankter Menschen häufiger kognitiv und sozial auffällig. Und es stellt sich die Frage nach einer neurologischen Ursache, die sowohl für die physiologischen, als auch für die psychologischen Symptome verantwortlich sein könnte. Chronischer Alkoholkonsum bei Müttern führt zu reduzierter Intelligenz bei den Kindern (fetal alcohol syndrom) (Willford, Leech et al. 2006; Servais, Hourez et al. 2007), die auf eine Veränderung der GABA- und NMDA-Rezeptoren zurückgeführt wird (Toso, Roberson et al. 2006) und eine positive Familienanamnese erhöht das Risiko zur Abhängigkeit (Petrakis, Limoncelli et al. 2004). Bei Ratten bestätigten zahlreiche Versuche diese Feststellung. Bei den Nachkommen von Muttertieren, denen einmalig oder wiederholt Ethanol angeboten worden war, kam es in vielen Hirnarealen zu massiver Apoptose (Olney 2004). Häufigere Gaben verursachten in anderen Versuchen deutliche Einschränkungen im räumlichen

Erinnerungsvermögen und im Wiedererkennen von Gegenständen (Popovic, Caballero-Bleda et al. 2006), sowie verringerte räumliche Lernfähigkeit (Omoto, Seki et al. 1993).

#### **4.8 Maternal Behaviour / Mütterliches Pflegeverhalten**

Die untersuchten Tiere entstammten zur einen Hälfte von mit MK-801 (Dizozilpin) behandelten Muttertieren (Alter 90 Tage) und zur anderen Hälfte von mit Placebo behandelten Muttertieren (Alter 90 Tage). Im Alter von 21 Tagen wurden die Jungtiere von der Mutter abgesetzt. Rekapituliert man die lang anhaltenden Einflüsse einer pharmakologischen Störung der Entwicklung des NMDA-R Systems im frühen Kindesalter, so ist eine unterschiedliche Prägung der zweiten Generation bei den Versuchsgruppen sehr nahe liegend und muss als wichtiger Einflussfaktor auf das spätere Verhalten der Tiere gesehen werden. Bei Ratten wurde die Bedeutung der Verhaltensweisen Lecken (licking) und Putzen (grooming) (LG) der Jungtiere sowie Säugen mit gebogenem Rücken (arched-back nursing, ABN) als klassische Vertreter für mütterliche Fürsorge in vielen Studien untersucht. Eine Veränderung oder Manipulation dieser Verhaltensweisen führte wiederholt zu veränderten Reaktionen auf Stress (Caldji, Tannenbaum et al. 1998; Francis, Diorio et al. 1999; Caldji, Diorio et al. 2000; Caldji, Diorio et al. 2003; Champagne, Francis et al. 2003). Je mehr Aufmerksamkeit (LG, ABN) die Jungen von ihrer Mutter bekamen, desto weniger ängstlich waren sie als ausgewachsene Tiere in einer neuen Umgebung (Treit and Menard 1997; Caldji, Tannenbaum et al. 1998; Uriarte, Breigeiron et al. 2007) oder bei Stressversuchen mit Stromschlägen (Treit and Menard 1997). Andersherum bekamen ängstliche Muttertiere stressempfindlichere Nachkommen (Cameron, Champagne et al. 2005) und die Fürsorglichkeit der Muttertiere übertrug sich auf deren weibliche Nachkommen, die ihrerseits gegenüber eigenem Nachwuchs ein sehr ähnliches pathologisches Fürsorgeverhalten zeigten (Rowe, Spreekmeester et al. 1998; Francis, Diorio et al. 1999; Champagne, Francis et al. 2003). Im Rahmen der vorliegenden Studie fiel immer wieder subjektiv auf, dass das Fürsorgeverhalten der MK-801 behandelten Muttertiere offensichtlich nicht so ausgeprägt war wie das der Kontrollmütter. Das betraf die Qualität des Nestbaus genauso wie das Zusammenhalten der Nachkommen in den ersten drei Wochen nach der Geburt. Leider gibt es über diese Verhaltensunterschiede keine Datenerhebungen. Allerdings ergänzen diese subjektiven Beobachtungen sehr gut die verhaltensbiologisch festgestellten Veränderungen und bestätigen im Gesamtbild die Ergebnisse der oben diskutierten Arbeiten.

## **4.9 Epigenetik – Vom Phänotyp zum Genotyp**

Über die präzisen Abläufe in der Epigenetik ist bisher wenig bekannt und deswegen kann über die Ursachen der Parallelen zwischen der ersten und der zweiten Generation MK-801 – behandelter Ratten nur spekuliert werden. Man sollte dabei versuchen, zwischen mütterlichem Pflegeverhalten und einer genetischen Weitergabe gewisser Eigenschaften zu unterscheiden. Bei Mäusen wurde bereits nachgewiesen, dass während der Schwangerschaft verabreichtes Kokain zu epigenomischen Veränderungen beim Nachwuchs führte, die sich in Form von DNA-Hyper-oder Hypomethylierung präsentierten (Novikova, He et al. 2008). Ein anderer Artikel erlaubt den Rückschluss, dass die Gabe von MK-801 bei Ratten Einfluss auf die epigenetische Regulierung der Genexpression haben könnte (Matsuoka, Tsunoda et al. 2008), die sich folglich auch vererben würde. Zusätzlich geht man von einem weiteren Mechanismus der epigenetischen Weitergabe eines Phänotyps aus, der unabhängig von der DNA abläuft (Rakyan and Beck 2006). Mütterliches Pflegeverhalten bzw. frühkindliche Erfahrungen können ebenfalls einen Einfluss auf die Genetik haben. Nachkommen fürsorglicher Muttertiere (high LG = high licking–grooming) hatten bei Stress geringere Plasmaspiegel an Adrenocortikotrophin und Corticosteron sowie gesteigerte Glukokortikoid Rezeptor mRNA im Hippocampus als jene wenig fürsorglicher Muttertiere (low LG) (Tang, Shimizu et al. 1999). Dies und andere Studienergebnisse lassen vermuten, dass die mütterliche Fürsorge und Prägung die hypothalamisch–hypophysäre Reaktion auf Stress wesentlich beeinflusst (Treit and Menard 1997; Rowe, Spreekmeester et al. 1998; Tang, Shimizu et al. 1999). Das mütterliche Pflegeverhalten in den ersten Lebenstagen hätte somit einen starken Einfluss auf die Expression der Gene, welche die endokrinen Reaktionen und das Verhalten der Nachkommen bei Stress regulieren (Rowe, Spreekmeester et al. 1998). Es wäre sicher interessant, nach den epigenetischen Mechanismen der Übertragung defizitärer Verhaltensweisen wie in der vorliegenden Arbeit zu forschen, da sie aus evolutionsbiologischer Sicht nicht immer sinnvoll sind.

## **4.10 Fazit und Ausblick**

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit helfen bei der Kenntnisk Gewinnung über pathologische Mechanismen von ZNS-Erkrankungen, denen eine Unter- oder Fehlfunktion des NMDAR Systems zugrunde liegt. Seit einigen Jahren ist bekannt, dass die Blockierung des NMDA–Rezeptors durch den nicht–kompetitiven Antagonisten MK-801 (Dizozilpin) zu Schizophrenie–ähnlichen Verhaltensweisen führt. In der vorliegenden Studie konnte erstmals gezeigt werden, dass diese Verhaltensveränderungen zum Teil auch noch in der unbehandelten Folgegeneration nachweisbar sind. Diese Parallelen waren zwar im direkten Vergleich zwischen Kontrolltieren und MK-801 II.Gen. deutlich weniger stark ausgeprägt. Der

Umfang einer gestörten altersabhängigen Verhaltensentwicklung als Folge der Behandlung ließ sich aber in beiden Generationen gleichermaßen signifikant nachweisen. Ferner reagierten die MK-801 II.Gen. in vielen Altersgruppen anders auf den Schwimmstress als die Kontrolltiere. Daraus lässt sich ableiten, dass mütterliches Pflegeverhalten oder epigenetische Veränderungen zum Übertragen der Eigenschaften beigetragen haben müssen, weil die untersuchten Tiere selbst nicht behandelt wurden. Außerdem kann sich die bei den Muttertieren künstlich herbeigeführte Blockade der NMDA-Rezeptoren nicht unmittelbar vererbt haben. Das festgestellte, unterschiedliche mütterliche Pflegeverhalten zwischen behandelten und unbehandelten Tieren wurde hier nicht dokumentiert. Für eine genauere Trennung der Verhaltens- von der epigenetischen Komponente wäre deswegen eine Untersuchung des unterschiedlichen maternalen Pflegeverhaltens von MK-801-behandelten Muttertieren hilfreich und sollte in einem der nächsten Experimente erhoben werden.

## 5 Zusammenfassung

Manche Erkrankungen des Zentralen Nervensystems, wie z.B. schizophrene Psychosen, werden auf eine kombinierte Fehlfunktion des dopaminergen und des glutamatergen NMDA-Rezeptorsystems zurückgeführt. In Verhaltensexperimenten beim Mensch und im Tiermodell führte die Blockade des NMDA-Rezeptors durch den nicht-kompetitiven Antagonist MK-801 (Dizolpin) zu Schizophrenie-ähnlichen Verhaltensweisen. In der vorliegenden Arbeit ging es um die verhaltensbiologische Beobachtung der Nachkommen von MK-801 behandelten, weiblichen Ratten (MK-801 II.Gen.) im Vergleich zu Nachkommen der mit einem Placebo behandelten Muttertiere. Hierfür wurden die Versuchstiere in 6 verschiedenen Altersgruppen (70d, 110d, 130d, 160d, 190d, 220d) jeweils erstmalig durch eine Testbatterie aus Elevated Plus Maze Test (EPM), Open Field Test (OF) und Forced Swim Test (FST) geführt. Im Anschluss an den FST wurden erneut EPM- und OF-Tests durchgeführt, um die Verhaltensreaktionen der Tiere auf den durch das Schwimmen induzierten Stress zu untersuchen. Dabei wurden Durchschnittsgeschwindigkeit, Gesamtstrecke, Aufenthaltsdauer und -häufigkeit in den verschiedenen Bereichen, Putzverhalten, Aufrichten und viele weitere Parameter beobachtet, die Aufschluss über die Ängstlichkeit und das Erkundungsverhalten der Tiere geben sollten. Der durch das Forced Swimming ausgelöste Stress führte bei den Tieren im 2. Open Field und im 2. Elevated Plus Maze zu reduzierter Aktivität (geringere zurückgelegte Distanz und geringere Geschwindigkeit) und zu gesteigertem Angstverhalten (häufigere und längere Aufenthalte in den geschützten Bereichen). Zusätzlich zeigte sich bei den Kontrolltieren eine zunehmende Ausprägung dieser Reaktionen auf Stress mit steigendem Alter mit einem signifikanten Schub zwischen den Altersstufen 130 und 160 Tagen. Bei den MK-801 II.Gen. war eine vergleichbare verhaltensbiologische Altersentwicklung in der Stressreaktion nicht nachzuweisen. Diese Unterschiede in der altersabhängigen verhaltensbiologischen Stressreaktion konnten kürzlich auch für die Tiere gezeigt werden, welche eine perinatale subchronische Behandlung mit MK-801 erhalten hatten. Demnach gibt es eine ausgeprägte Übertragung von verhaltensbiologischen und altersabhängigen Störungen von der ersten direkt betroffenen Generation auf deren Folgegeneration. Ursache hierfür könnten Veränderungen im Brutpflegeverhalten der Muttertiere oder epigenetische Phänomene sein, die es in der Zukunft genauer zu untersuchen gilt.

## 6 Literaturverzeichnis

- Adamec, R., P. Kent, et al. (1998). "Neural plasticity, neuropeptides and anxiety in animals-- implications for understanding and treating affective disorder following traumatic stress in humans." *Neurosci Biobehav Rev* **23**(2): 301-18.
- Asano, Y. (1986). "Characteristics of open field behavior of Wistar and Sprague-Dawley rats." *Jikken Dobutsu* **35**(4): 505-8.
- Baier, P. C., A. Blume, et al. (2009). "Early postnatal depletion of NMDA receptor development affects behavior and NMDA receptor expression until later adulthood in rats-A possible model for schizophrenia" *Behavioural Brain Research* **205** (2009)96-101.
- Benetti, F., P. Andrade de Araujo, et al. (2007). "Effects of neonatal novelty exposure on sexual behavior, fear, and stress-response in adult rats." *Dev Psychobiol* **49**(3): 258-64.
- Bessa, J. M., M. Oliveira, et al. (2005). "Age-related qualitative shift in emotional behaviour: paradoxical findings after re-exposure of rats in the elevated-plus maze." *Behav Brain Res* **162**(1): 135-42.
- Bliss, T. V. and G. L. Collingridge (1993). "A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus." *Nature* **361**(6407): 31-9.
- Caldji, C., J. Diorio, et al. (2000). "Variations in maternal care in infancy regulate the development of stress reactivity." *Biol Psychiatry* **48**(12): 1164-74.
- Caldji, C., J. Diorio, et al. (2003). "Variations in maternal care alter GABA(A) receptor subunit expression in brain regions associated with fear." *Neuropsychopharmacology* **28**(11): 1950-9.
- Caldji, C., B. Tannenbaum, et al. (1998). "Maternal care during infancy regulates the development of neural systems mediating the expression of fearfulness in the rat." *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**(9): 5335-40.
- Cameron, N. M., F. A. Champagne, et al. (2005). "The programming of individual differences in defensive responses and reproductive strategies in the rat through variations in maternal care." *Neurosci Biobehav Rev* **29**(4-5): 843-65.
- Carey, R. J., H. Dai, et al. (1998). "Effects of dizocilpine (MK-801) on motor activity and memory." *Psychopharmacology (Berl)* **137**(3): 241-6.
- Carobrez, A. P. and L. J. Bertoglio (2005). "Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on." *Neurosci Biobehav Rev* **29**(8): 1193-205.
- Champagne, F. A., D. D. Francis, et al. (2003). "Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development." *Physiol Behav* **79**(3): 359-71.
- Coyle, J. T. and G. Tsai (2004). "NMDA receptor function, neuroplasticity, and the pathophysiology of schizophrenia." *Int Rev Neurobiol* **59**: 491-515.
- Dai, H. and R. J. Carey (1994). "The NMDA antagonist MK-801 can impair attention to exteroceptive stimuli." *Behav Brain Res* **62**(2): 149-56.
- Dawson, G. R., S. P. Crawford, et al. (1995). "Evidence that the anxiolytic-like effects of chlordiazepoxide on the elevated plus maze are confounded by increases in locomotor activity." *Psychopharmacology (Berl)* **118**(3): 316-23.
- Dawson, G. R., S. P. Crawford, et al. (1994). "One-trial tolerance to the effects of chlordiazepoxide on the elevated plus maze may be due to locomotor habituation, not repeated drug exposure." *Psychopharmacology (Berl)* **113**(3-4): 570-2.

- Dere, E., B. Topic, et al. (2002). "The graded anxiety test: a novel test of murine unconditioned anxiety based on the principles of the elevated plus-maze and light-dark test." *J Neurosci Methods* **122**(1): 65-73.
- Di Pietro, N. C. and J. K. Seamans (2007). "Dopamine and serotonin interactions in the prefrontal cortex: insights on antipsychotic drugs and their mechanism of action." *Pharmacopsychiatry* **40 Suppl 1**: S27-33.
- Dohler, K. D. and W. Wuttke (1975). "Changes with age in levels of serum gonadotropins, prolactin and gonadal steroids in prepubertal male and female rats." *Endocrinology* **97**(4): 898-907.
- Dohler, K. D. and W. Wuttke (1975). "Pubertät mit 60d, sexual maturation complete Changes with age in levels of serum gonadotropins, prolactin and gonadal steroids in prepubertal male and female rats." *Endocrinology* **97**(4): 898-907.
- Elliott, R. and B. J. Sahakian (1995). "The neuropsychology of schizophrenia: relations with clinical and neurobiological dimensions." *Psychol Med* **25**(3): 581-94.
- Facchinetti, F., E. Ciani, et al. (1993). "Structural, neurochemical and behavioural consequences of neonatal blockade of NMDA receptor through chronic treatment with CGP 39551 or MK-801." *Brain Res Dev Brain Res* **74**(2): 219-24.
- Finn, D. P., O. Marti, et al. (2003). "Behavioral, neuroendocrine and neurochemical effects of the imidazoline I2 receptor selective ligand BU224 in naive rats and rats exposed to the stress of the forced swim test." *Psychopharmacology (Berl)* **167**(2): 195-202.
- Francis, D., J. Diorio, et al. (1999). "Nongenomic transmission across generations of maternal behavior and stress responses in the rat." *Science* **286**(5442): 1155-8.
- Gardoni, F. and M. Di Luca (2006). "New targets for pharmacological intervention in the glutamatergic synapse." *Eur J Pharmacol* **545**(1): 2-10.
- Gorter, J. A. and R. J. Brady (1994). "NMDA receptor responses in adult hippocampal CA1 region after neonatal treatment with MK-801: comparison with NMDA receptor responses in the immature rat." *Brain Res* **665**(1): 63-8.
- Gorter, J. A., M. Titulaer, et al. (1991). "Chronic neonatal MK-801 administration leads to a long-lasting increase in seizure sensitivity during the early stages of hippocampal kindling." *Neurosci Lett* **134**(1): 29-32.
- Gorter, J. A., M. Veerman, et al. (1992). "Hippocampal neuronal responsiveness to NMDA agonists and antagonists in the adult rat neonatally treated with MK-801." *Brain Res* **572**(1-2): 176-81.
- Grant, K. A. and D. M. Lovinger (1995). "Alk stärkster NMDA-Binder Cellular and behavioral neurobiology of alcohol: receptor-mediated neuronal processes." *Clin Neurosci* **3**(3): 155-64.
- Grimwood, S., P. Slater, et al. (1999). "NR2B-containing NMDA receptors are up-regulated in temporal cortex in schizophrenia." *Neuroreport* **10**(3): 461-5.
- Hallett, P. J., A. W. Dunah, et al. (2005). "Alterations of striatal NMDA receptor subunits associated with the development of dyskinesia in the MPTP-lesioned primate model of Parkinson's disease." *Neuropharmacology* **48**(4): 503-16.
- Hans, S. L., J. G. Auerbach, et al. (2005). "Development from birth to adolescence of children at-risk for schizophrenia." *J Child Adolesc Psychopharmacol* **15**(3): 384-94.
- Harrison, P. J. and D. R. Weinberger (2005). "Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence." *Mol Psychiatry* **10**(1): 40-68; image 5.
- Hlinak, Z., D. Gandalovicova, et al. (2005). "Behavioral deficits in adult rats treated neonatally with glutamate." *Neurotoxicol Teratol* **27**(3): 465-73.
- Humphries, C., A. Mortimer, et al. (1996). "NMDA receptor mRNA correlation with antemortem cognitive impairment in schizophrenia." *Neuroreport* **7**(12): 2051-5.

- Hynd, M. R., H. L. Scott, et al. (2004). "Differential expression of N-methyl-D-aspartate receptor NR2 isoforms in Alzheimer's disease." *J Neurochem* **90**(4): 913-9.
- Imanaka, A., S. Morinobu, et al. (2006). "Importance of early environment in the development of post-traumatic stress disorder-like behaviors." *Behav Brain Res* **173**(1): 129-37.
- Javitt, D. C. (2007). "Glutamate and Schizophrenia: Phencyclidine, N-Methyl-d-Aspartate Receptors, and Dopamine-Glutamate Interactions." *Int Rev Neurobiol* **78**: 69-108.
- Johnson, J. D. (2005). "Dysfunction of the anterior hippocampus: the cause of fundamental schizophrenic symptoms?" *Med Hypotheses* **65**(1): 55-60.
- Kakegawa, W., K. Tsuzuki, et al. (2003). "Functional NMDA receptor channels generated by NMDAR2B gene transfer in rat cerebellar Purkinje cells." *Eur J Neurosci* **17**(4): 887-91.
- Kamenetz, F., T. Tomita, et al. (2003). "APP processing and synaptic function." *Neuron* **37**(6): 925-37.
- Kesslak, J. P., K. R. Chuang, et al. (2003). "Spatial learning is delayed and brain-derived neurotrophic factor mRNA expression inhibited by administration of MK-801 in rats." *Neurosci Lett* **353**(2): 95-8.
- Kutsuwada, T., N. Kashiwabuchi, et al. (1992). "Molecular diversity of the NMDA receptor channel." *Nature* **358**(6381): 36-41.
- Latysheva, N. V. and K. S. Rayevsky (2003). "Chronic neonatal N-methyl-D-aspartate receptor blockade induces learning deficits and transient hypoactivity in young rats." *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **27**(5): 787-94.
- Lau, A. H., M. P. Ngan, et al. (2005). "Differential action of domperidone to modify emesis and behaviour induced by apomorphine in the ferret." *Eur J Pharmacol* **516**(3): 247-52.
- Laviola, G., W. Adriani, et al. (1999). "Psychobiological risk factors for vulnerability to psychostimulants in human adolescents and animal models." *Neurosci Biobehav Rev* **23**(7): 993-1010.
- Laviola, G., S. Macri, et al. (2003). "Risk-taking behavior in adolescent **PD 21 to 60** mice: psychobiological determinants and early epigenetic influence." *Neurosci Biobehav Rev* **27**(1-2): 19-31.
- Lino-de-Oliveira, C., T. C. De Lima, et al. (2002). "Dorsal periaqueductal gray matter inhibits passive coping strategy elicited by forced swimming stress in rats." *Neurosci Lett* **335**(2): 87-90.
- Lopes, A. P., I. C. da Cunha, et al. (2007). "GABAA and GABAB agonist microinjections into medial accumbens shell increase feeding and induce anxiolysis in an animal model of anxiety." *Behav Brain Res* **184**(2): 142-9.
- Lynch, D. R. and R. P. Guttman (2002). "Excitotoxicity: perspectives based on N-methyl-D-aspartate receptor subtypes." *J Pharmacol Exp Ther* **300**(3): 717-23.
- Malenka, R. C. and R. A. Nicoll (1993). "NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity: multiple forms and mechanisms." *Trends Neurosci* **16**(12): 521-7.
- Matsuoka, T., M. Tsunoda, et al. (2008). "Effect of MK-801 on gene expressions in the amygdala of rats." *Synapse* **62**(1): 1-7.
- McNeil, T. F., B. Harty, et al. (1993). "Neuromotor deviation in offspring of psychotic mothers: a selective developmental deficiency in two groups of children at heightened psychiatric risk?" *J Psychiatr Res* **27**(1): 39-54.
- Mishizen-Eberz, A. J., R. A. Rissman, et al. (2004). "Biochemical and molecular studies of NMDA receptor subunits NR1/2A/2B in hippocampal subregions throughout progression of Alzheimer's disease pathology." *Neurobiol Dis* **15**(1): 80-92.



- Monyer, H., N. Burnashev, et al. (1994). "Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors." *Neuron* **12**(3): 529-40.
- Naslund, B., I. Persson-Blennow, et al. (1984). "Offspring of women with nonorganic psychosis: infant attachment to the mother at one year of age." *Acta Psychiatr Scand* **69**(3): 231-41.
- Nayyar, T., J. Wu, et al. (2003). "Downregulation of hippocampal NMDA receptor expression by prenatal exposure to dioxin." *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* **49**(8): 1357-62.
- Novikova, S. I., F. He, et al. (2008). "Maternal cocaine administration in mice alters DNA methylation and gene expression in hippocampal neurons of neonatal and prepubertal offspring." *PLoS ONE* **3**(4): e1919.
- Olney, J. W. (2004). "Fetal alcohol syndrome at the cellular level." *Addict Biol* **9**(2): 137-49; discussion 151.
- Olney, J. W., J. W. Newcomer, et al. (1999). "NMDA receptor hypofunction model of schizophrenia." *J Psychiatr Res* **33**(6): 523-33.
- Olney, J. W., D. F. Wozniak, et al. (2002). "The enigma of fetal alcohol neurotoxicity." *Ann Med* **34**(2): 109-19.
- Omoto, M., K. Seki, et al. (1993). "The effects of ethanol exposure on radial arm maze learning and behavior of offspring rats." *Environ Res* **63**(1): 109-21.
- Orito, K., N. Gotanda, et al. (2007). "Prenatal exposure to 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB126) promotes anxiogenic behavior in rats." *Tohoku J Exp Med* **212**(2): 151-7.
- Osborn, J. A., C. K. Kim, et al. (1998). "Prenatal ethanol exposure differentially alters behavior in males and females on the elevated plus maze." *Alcohol Clin Exp Res* **22**(3): 685-96.
- Panatier, A., D. T. Theodosis, et al. (2006). "Glia-derived D-serine controls NMDA receptor activity and synaptic memory." *Cell* **125**(4): 775-84.
- Pedreanez, A., J. L. Arcaya, et al. (2006). "Forced swimming test increases superoxide anion positive cells and angiotensin II positive cells in the cerebrum and cerebellum of the rat." *Brain Res Bull* **71**(1-3): 18-22.
- Petrakis, I. L., D. Limoncelli, et al. (2004). "Altered NMDA glutamate receptor antagonist response in individuals with a family vulnerability to alcoholism." *Am J Psychiatry* **161**(10): 1776-82.
- Pitsikas, N., S. Zisopoulou, et al. (2008). "The selective 5-HT(6) receptor antagonist Ro 04-6790 attenuates psychotomimetic effects of the NMDA receptor antagonist MK-801." *Behav Brain Res* **188**(2): 304-9.
- Popovic, M., M. Caballero-Bleda, et al. (2006). "Adult rat's offspring of alcoholic mothers are impaired on spatial learning and object recognition in the Can test." *Behav Brain Res* **174**(1): 101-11.
- Rakyan, V. K. and S. Beck (2006). "Epigenetic variation and inheritance in mammals." *Curr Opin Genet Dev* **16**(6): 573-7.
- Rampon, C. and J. Z. Tsien (2000). "Genetic analysis of learning behavior-induced structural plasticity." *Hippocampus* **10**(5): 605-9.
- Rex, A., J. P. Voigt, et al. (1998). "Pharmacological evaluation of a modified open-field test sensitive to anxiolytic drugs." *Pharmacol Biochem Behav* **59**(3): 677-83.
- Rezvani, A. H., Y. Tizabi, et al. (2008). "Chronic nicotine and dizocilpine effects on nicotinic and NMDA glutamatergic receptor regulation: Interactions with clozapine actions and attentional performance in rats." *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*.
- Rodgers, R. J. and J. C. Cole (1993). "Anxiety enhancement in the murine elevated plus maze by immediate prior exposure to social stressors." *Physiol Behav* **53**(2): 383-8.
- Rodgers, R. J. and A. Dalvi (1997). "Anxiety, defence and the elevated plus-maze." *Neurosci Biobehav Rev* **21**(6): 801-10.

- Rowe, W. B., E. Spreekmeester, et al. (1998). "Reactivity to novelty in cognitively-impaired and cognitively-unimpaired aged rats and young rats." *Neuroscience* **83**(3): 669-80.
- Rujescu, D., A. Bender, et al. (2006). "A pharmacological model for psychosis based on PCP N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction: molecular, cellular, functional and behavioral abnormalities." *Biol Psychiatry* **59**(8): 721-9.
- Sakimura, K., T. Kutsuwada, et al. (1995). "Reduced hippocampal LTP and spatial learning in mice lacking NMDA receptor epsilon 1 subunit." *Nature* **373**(6510): 151-5.
- Scarpini, E., P. Scheltens, et al. (2003). "Treatment of Alzheimer's disease: current status and new perspectives." *Lancet Neurol* **2**(9): 539-47.
- Schiffelholz, T., D. Hinze-Selch, et al. (2004). "Perinatal MK-801 treatment affects age-related changes in locomotor activity from childhood to later adulthood in rats." *Neurosci Lett* **360**(3): 157-60.
- Schoemaker, R. G. and J. F. Smits (1994). "Behavioral changes following chronic myocardial infarction in rats." *Physiol Behav* **56**(3): 585-9.
- Servais, L., R. Hourez, et al. (2007). "Purkinje cell dysfunction and alteration of long-term synaptic plasticity in fetal alcohol syndrome." *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**(23): 9858-63.
- Sevgi, S., M. Ozek, et al. (2006). "L-NAME prevents anxiety-like and depression-like behavior in rats exposed to restraint stress." *Methods Find Exp Clin Pharmacol* **28**(2): 95-9.
- Shao, S. H., F. Pan, et al. (2007). "Aging effects on the habitual expression of HSP70 mRNA in the hippocampus of rats." *Chin J Physiol* **50**(3): 113-20.
- Sherer, T. B., R. Betarbet, et al. (2001). "Pathogenesis of Parkinson's disease." *Curr Opin Investig Drugs* **2**(5): 657-62.
- Stecher, J., W. E. Muller, et al. (1997). "Learning abilities depend on NMDA-receptor density in hippocampus in adult rats." *J Neural Transm* **104**(2-3): 281-9.
- Stefani, M. R. and B. Moghaddam (2005). "Transient N-methyl-D-aspartate receptor blockade in early development causes lasting cognitive deficits relevant to schizophrenia." *Biol Psychiatry* **57**(4): 433-6.
- Svenningsson, P., E. T. Tzavara, et al. (2003). "Diverse psychotomimetics act through a common signaling pathway." *Science* **302**(5649): 1412-5.
- Tang, Y. P., E. Shimizu, et al. (1999). "Genetic enhancement of learning and memory in mice." *Nature* **401**(6748): 63-9.
- Terzian, A. C., S. B. Andreoli, et al. (2007). "A cross-sectional study to investigate current social adjustment of offspring of patients with schizophrenia." *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* **257**(4): 230-6.
- Thiel, C. M., J. P. Huston, et al. (1998). "Hippocampal acetylcholine and habituation learning." *Neuroscience* **85**(4): 1253-62.
- Toso, L., S. H. Poggi, et al. (2005). "N-methyl-D-aspartate subunit expression during mouse development altered by in utero alcohol exposure." *Am J Obstet Gynecol* **193**(4): 1534-9.
- Toso, L., R. Roberson, et al. (2006). "Prenatal alcohol exposure alters GABA(A)alpha5 expression: a mechanism of alcohol-induced learning dysfunction." *Am J Obstet Gynecol* **195**(2): 522-7.
- Treit, D. and J. Menard (1997). "Dissociations among the anxiolytic effects of septal, hippocampal, and amygdaloid lesions." *Behav Neurosci* **111**(3): 653-8.
- Tsai, G. and J. T. Coyle (2002). "Glutamatergic mechanisms in schizophrenia." *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **42**: 165-79.

- Uriarte, N., M. K. Breigeiron, et al. (2007). "Effects of maternal care on the development, emotionality, and reproductive functions in male and female rats." *Dev Psychobiol* **49**(5): 451-62.
- Vengeliene, V., D. Bachteler, et al. (2005). "The role of the NMDA receptor in alcohol relapse: a pharmacological mapping study using the alcohol deprivation effect." *Neuropharmacology* **48**(6): 822-9.
- Villmann, C. and C. M. Becker (2007). "On the hypes and falls in neuroprotection: targeting the NMDA receptor." *Neuroscientist* **13**(6): 594-615.
- Watanabe, M., Y. Inoue, et al. (1992). "Developmental changes in distribution of NMDA receptor channel subunit mRNAs." *Neuroreport* **3**(12): 1138-40.
- Whimbey, A. E. and V. H. Denenberg (1967). "Two independent behavioral dimensions in open-field performance." *J Comp Physiol Psychol* **63**(3): 500-4.
- Willford, J., S. Leech, et al. (2006). "Moderate prenatal alcohol exposure and cognitive status of children at age 10." *Alcohol Clin Exp Res* **30**(6): 1051-9.
- Wyneken, U., J. J. Marengo, et al. (2004). "Electrophysiology and plasticity in isolated postsynaptic densities." *Brain Res Brain Res Rev* **47**(1-3): 54-70.
- Yang, X., H. E. Criswell, et al. (1996). "Evidence for a selective effect of ethanol on N-methyl-d-aspartate responses: ethanol affects a subtype of the ifenprodil-sensitive N-methyl-d-aspartate receptors." *J Pharmacol Exp Ther* **278**(1): 114-24.

## **Danksagung**

Mein Dank gilt vor allem Prof. Dr. Joseph Aldenhoff für die Möglichkeit, die vorliegende Doktorarbeit inklusive aller erforderlichen Versuche im Zentrum für Integrative Psychiatrie zu erstellen.

Ganz besonders hervorheben möchte ich an dieser Stelle Dr. Thomas Schiffelholz. Seine stets freundliche und zuvorkommende Betreuung erstreckte sich von praktischen Tipps zur Durchführung der Experimente über Hinweise auf wichtige Literaturquellen bis hin zu Ratschlägen jedweder Art über den gesamten Umfang dieser Arbeit. Diese Zusammenarbeit hat mir große Freude gemacht und mich in vielen schwierigen Phasen neu motiviert.

Großen Dank auch an Julia Deicke, die mir bei zahlreichen Experimenten immer besonders fröhlich und kompetent zur Seite stand .

## Lebenslauf

## Karl von Randow



Calvinstr. 17, 24114 Kiel  
+49 177 8377210  
karlradow@web.de

\* Bonn 02.10.1979  
Nationalität: deutsch

### Ausbildung

---

Nov 08	<b>Staatsexamen</b>
Sept. 05-Juni 08	Dissertation: <b>Verhaltensbiologische Effekte einer subchronischen perinatalen Antagonisierung des NMDA Rezeptors bei Ratten auf Tiere der zweiten Generation</b> , Zentrum für Integrative Psychiatrie, Betreuer: Prof. J. Aldenhoff
Seit Okt 04	<b>Studium der Humanmedizin</b> , Christian-Albrechts-Universität Kiel
April 04-Aug. 04	<b>Studium der Humanmedizin</b> , Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
Aug 03	<b>Ärztliche Vorprüfung</b> , Note: 3,0
Okt 01 - Sept. 03	<b>Studium der Humanmedizin, Universität Leipzig</b>
Jan. 00-Mai 00	Ausbildung zum <b> Rettungssanitäter</b> , Malteserschule Aachen
1999-2000	<b>Grundwehrdienst in Munster, Örtze</b>
1996-1999	Humanist. <b>Gymnasium</b> , Internat Benediktinerabtei Ettal, Garmisch-Partenkirchen, <b>Abitur</b> , Note: 2,6
1991-1996	<b>Gymnasium Brede in Brakel, Kreis Höxter</b>

### Praktika

---

#### Praktisches Jahr

Okt. – Jan. 07/08	<b>1. Medizinische Klinik, Universitätsklinikum Kiel</b> Prof. Dr. G. Simon-Herrmann
Juni – Okt. 07	<b>Chirurgische Klinik, Städtisches Krankenhaus Kiel</b> Prof. Dr. I. Vogel
Feb. – Juni 07	<b>Klinik für Ophthalmologie, Universitätsklinikum Kiel</b> Prof. Dr. J. Roeder

#### Famulaturen:

Aug/Sep 06	<b>Klinik Sanssouci, Potsdam, Dr. Krüger</b>
Feb/März 06	<b>Klinik für Ophthalmologie, Universitätsklinikum Kiel, Prof. Dr. J. Roeder</b>
August 05	<b>Gemeinschaftspraxis für Innere Medizin, Berlin, Dr. Th. v. Brück</b>
Feb/Mär 04	<b>Hospital National in Solola, Guatemala, Dr. Hildebrando-Carillo</b>

#### Sonstiges

---

2003/2004	<b>Studienreise</b> nach Mexiko, Belize und Guatemala, verbunden mit <b>Sprachkurs Spanisch</b> und Famulatur im Hospital National in Solola, Guatemala
2000-2001	<b>Praktika</b> in der <b>Pädiatrie, Gynäkologie, Inneren Medizin</b> und <b>Augenheilkunde</b> <b>Krankenpflegepraktikum</b> Hospital San Juan de Dios in Caracas, Venezuela <b>Praktikum</b> in der medizinischen <b>Hilfsstation Maniapure</b> im Süden Venezuelas <b>Aushilfskraft</b> in der Praxis Dr. v. Randow, Beverungen
<b>Sprachen:</b>	Deutsch: Muttersprache, Englisch: Fließend, Spanisch: Grundkenntnisse
<b>EDV- Kenntnisse:</b>	Word, Excel, PowerPoint, Outlook
<b>Freizeitaktivitäten:</b>	Natur, Schwimmen, Fahrradfahren, Fußball, Volleyball, Fotografie

